



TECHNICAL CHEMISTRY I
BARCIKOWSKI GROUP

UNIVERSITÄT
DUISBURG
ESSEN

Open-Minded

Lasergenerierte funktionale Nanopartikel-Polymer-Komposite als Ionenfreisetzungssysteme für medizinische Anwendungen

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
einer Doktorin der Naturwissenschaften

- Dr. rer. nat. -

vorgelegt von

M.Sc. Nina Million

geboren in Bottrop

Fakultät für Chemie
der
Universität Duisburg-Essen

2017

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum von November 2012 bis Mai 2016 im Arbeitskreis von Prof. Dr. Stephan Barcikowski der Fakultät für Chemie der Universität Duisburg-Essen durchgeführt.

Tag der Disputation: 21.06.2017

1. Gutachter: Prof. habil Dr.-Ing. Stephan Barcikowski
Universität Duisburg-Essen

2. Gutachter: Dr. Cornelia Lee-Thedieck
Karlsruher Institut für Technologie

Vorsitzender: Prof. Dr. Matthias Epple
Universität Duisburg-Essen

Erklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit mit dem Titel

„Lasergenerierte funktionale Nanopartikel-Polymer-Komposite als
Ionenfreisetzungssysteme für medizinische Anwendungen“

selbst verfasst habe und keine außer den angegebenen Hilfsmitteln und Quellen
benutzt habe. Die Arbeit wurde in dieser oder ähnlicher Form noch bei keiner anderen
Universität eingereicht.

Essen, im April 2017

Nina Million

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr.-Ing. Stephan Barcikowski für die Betreuung dieser Doktorarbeit sowie für die stetige Unterstützung. Außerdem danke ich Dr. Cornelia Lee-Thedieck für die Übernahme des Zweitgutachtens und Prof. Dr. Matthias Epple für die Übernahme des Prüfungsvorsitzes.

Ein großer Dank gilt dem Arbeitskreis der Technischen Chemie I der Universität Duisburg-Essen für die hervorragende Arbeitsatmosphäre, die konstruktiven Diskussionen und die große Hilfsbereitschaft. Hervorheben möchte ich meinen Dank an Dr. Christoph Rehbock für seine Gruppenleitertätigkeiten und Jurij Jakobi für die mikroskopischen Analysen. Ebenso danke ich Marcus Hildebrandt, Sandra Jendrzej, Ana Rosa de Lima, Amandeep Jindal, Stefanie Sand, Hendrik Böhler, Insa Rapp, Ivan Skenderovic und Matthias Lang für ihre studentischen Arbeiten.

Ein weiterer Dank geht an das ICAN (insbes. Birgit Gleising) und die Arbeitskreise der Aquatischen Ökologie (insbes. Prof. Dr. Bernd Sures und Dr. Milen Nachev) und dem Biofilm Centre (insbes. Thomas Knura) der Universität Duisburg-Essen für die Bereitstellung von Analysegeräten und die technische Unterstützung. Außerdem danke ich Sabrina Mallmann (Center for Chemical Polymer Technology, Aachen) für die Anfertigung von TEM- und FESEM-Aufnahmen (unterstützt durch die EU und NRW, EFRE 300088302).

Im Zuge des von der DFG geförderten Projekts (SPP 1327, BA 35802-2) hat mich die Zusammenarbeit mit Dr. Philipp Wilke, M.Sc. Catalina Molano und Prof. Dr. Andriy Pich (DWI – Leibniz Institut für Interaktive Materialien, Aachen) sowie M.Sc. Vincent Coger, Prof. Dr. Kerstin Reimers und Prof. Dr. Peter M. Vogt (Medizinische Hochschule Hannover) durch konstruktive Diskussionen und fachliche Beiträge sehr bei meiner Forschungsarbeit unterstützt. Zusätzlich danke ich auch meinen weiteren Kooperationspartnern Dr. Jörn Bonse, Dr. Jörg Krüger (BAM, Berlin), Dr. Andreas Blaeser, Prof. Dr. Horst Fischer (Universitätsklinikum Aachen), Dr. Cornelia Lee-Thedieck und Dipl. Biol. Katharina Brändle (KIT) für eine äußerst angenehme und erfolgreiche Zusammenarbeit.

Zuletzt möchte ich noch meiner Familie danken, die mich über den gesamten Zeitraum unterstützt hat. Ebenso danke ich Lisa Gamrad, Sven Koenen und René Streubel, die mich als Arbeitskollegen aber besonders als Freunde stets fachlich und emotional unterstützten.

Inhaltsverzeichnis

Kurzzusammenfassung	IV
Abstract	V
1. Einleitung	1
2. Theoretische Grundlagen	3
2.1 Wundheilung und Zellwachstum	3
2.2 Nanopartikel-Polymer-Komposite	10
2.2.1 Polymere, Mikro- und Hydrogele	10
2.2.2 Nanopartikel-Polymer-Komposite für die biomedizinische Anwendung	12
2.2.3 Herstellung von Nanopartikel-Polymer-Kompositen	21
2.3 Lasergenerierung von Nanopartikeln in Flüssigkeiten	24
2.4 Laserbasierte Nanostrukturierung von Oberflächen	30
3. Zielsetzung	32
4. Materialien und Methoden	34
4.1 Materialien	34
4.1.1 Chemikalien	34
4.1.2 Geräte	37
4.2 Methoden	42
4.2.1 Kolloidanalyse	42
4.2.2 Kompositanalyse	42
4.2.3 Bildgebende Analytik	43
5. Experimentelle Durchführung und Methodenentwicklung	45
5.1 Laserabtrag in Flüssigkeiten	45
5.2 Materialverarbeitung	51
5.3 Ionenfreisetzung	53
5.4 Hautproben-Analyse	57
5.5 Mechanische Testungen	59
5.6 Biologische Testungen	60
6. Ergebnisse und Diskussion	65
6.1 Laserinduzierte periodische Oberflächenstrukturierung	65
6.2 Einflüsse auf die Ausbeute beim Laserabtrag in Flüssigkeiten	83
6.2.1 Laser- und Prozessparameter	83
6.2.2 Materialparameter	92
6.2.3 Fluidparameter	95

6.3 Einfluss des Sauerstoffgehalts auf den Oxidationszustand lasergenerierter Nanopartikel	101
6.3.1 Entgasung von Wasser.....	101
6.3.2 Laserablation in Wasser mit unterschiedlichen Sauerstoffkonzentrationen	105
6.4 Synthese von Ionenquellen: Herstellung und Charakterisierung	115
6.5 Einfluss der Materialformulierung auf die Ionenfreisetzung	130
6.5.1 Weiterverarbeitung mittels Elektrosinnen.....	130
6.5.2 Variation der Beladung	133
6.5.3 Multielemente	142
6.6 Biologische Validierung und Anwendungen der erstellten Ionenfreisetzungssysteme	149
6.6.1 Brandwunden	150
6.6.2 Weitere Anwendungsmöglichkeiten von Ionenfreisetzungssystemen	161
7. Zusammenfassung.....	192
8. Verzeichnisse.....	201
8.1 Literaturverzeichnis.....	201
8.2 Abkürzungsverzeichnis	232
8.3 Abbildungsverzeichnis	236
8.4 Tabellenverzeichnis	250
9. Anhang	251
9.1 Laserinduzierte periodische Oberflächenstrukturierung	251
9.2 Einflüsse auf die Ausbeute beim Laserabtrag in Flüssigkeiten.....	254
9.2.1 Laser- und Prozessparameter	254
9.2.2 Materialparameter	256
9.3 Einfluss des Sauerstoffgehalts auf den Oxidationszustand lasergenerierter Nanopartikel	257
9.3.1 Laserablation in Wasser mit unterschiedlichen Sauerstoffkonzentrationen	257
9.4 Synthese von Ionenquellen: Herstellung und Charakterisierung	267
9.5 Einfluss der Materialformulierung auf die Ionenfreisetzung	273
9.5.1 Weiterverarbeitung mittels Elektrosinnen.....	273
9.5.2 Variation der Beladung	276
9.5.3 Multielemente	279
9.6 Weitere Anwendungsmöglichkeiten von Ionenfreisetzungssystemen.....	283
9.6.1 Gefäßbildung.....	283
9.6.2 Stammzelldifferenzierung zur Gewebegeneration.....	287

10. Lebenslauf	290
11. Publikationsliste	292

Kurzzusammenfassung

Die Wundheilung beim Menschen ist ein äußerst komplexer Prozess, der insbesondere bei schweren Brandverletzungen aufgrund möglicher Infektionen einen langen Zeitraum in Anspruch nehmen kann. Durch die Verletzung ist der Haushalt der Metallionen, welche essentiell an der Wundheilung beteiligt sind, gestört. Ein vielversprechender Ansatz zur Unterstützung der Heilung liegt daher in der Ionenzugabe aus Verbandsmaterialien, wofür sich besonders lasergenerierte Nanopartikel-Polymer-Komposite anbieten.

In dieser Arbeit wurde die Herstellung eines Kompositmaterials mit lasergenerierten Nanopartikeln als Ionendepot, *in situ* eingebettet in eine Copolymermatrix, auf rein wässriger Basis durchgeführt. Dadurch konnten die hohen Reinheitsansprüche für medizinische Anwendungen erfüllt werden. Bei der Herstellung von Nanopartikeln wurde für eine möglichst hohe Produktivität eine Optimierung der Laser-, Prozess-, Material- und Fluidparameter durchgeführt. Darüber hinaus wurde eine Untersuchung der Laser-Material-Wechselwirkung anhand der Erzeugung von laser-induzierten periodischen Oberflächenstrukturen durchgeführt, wobei der Einfluss der Lösungsmiteileigenschaften auf die Strukturbildung gezeigt wurde. Dies ermöglichte ein besseres Verständnis des Laserabtragsprozesses.

Damit wurden Komposite mit unterschiedlichen Zusammensetzungen hergestellt, welche anschließend durch Elektrospinnen zu einem Fasernetzwerk als Wundauflage oder durch Bioextrusion zu einem Scaffold weiterverarbeitet werden konnten. Die Systeme zeigten eine stabile Einbettung der Nanopartikel im Polymer sowie eine gute Biokompatibilität. Ionenfreisetzungsstudien belegten eine kontinuierliche Ionenabgabe eines oder mehrerer Elemente über einen Zeitraum von 105 h. Nach der Bestimmung des Ionengehalts in einer Wunde zu verschiedenen Heilungszeiten anhand von Rattenhaut zeigte dies, dass die Komposite für eine Unterstützung aller Heilungsstadien genutzt werden können. Zudem konnte durch die Eisenionenfreisetzung auch eine Verbesserung der Zelladhäsion und Viabilität von humanen Endothelzellen, sowie in ersten Experimenten ein Einfluss auf die frühe Stammzelldifferenzierung erzielt werden.

Die Studien dieser Arbeit zeigten, dass die hergestellten Nanopartikel-Polymer-Komposite durch ihre einfache und flexible Herstellung für verschiedene Anwendungen schnell angepasst und in verschiedenen Bereichen der Medizin angewendet werden können.

Abstract

Human wound healing is a really complex process which could take a long time, especially for severe burn wounds due to infections. Caused by the thermal injury, the balance of metal ions, which are essentially involved in wound healing, is disturbed. A promising solution to support the wound healing process is the addition of ions by wound coverages. For this purpose the use of laser-generated nanoparticle-polymer composites is a very good opportunity.

In this work a composite material consisting of laser-generated nanoparticles serving as ion depot, embedded *in situ* into a copolymer matrix, was prepared using a completely water-based synthesis route. Thus, the high purity standard for medical applications was fulfilled. To reach the highest possible nanoparticle productivity, an optimization of laser, process, material and liquid parameters was conducted. In addition to that, an examination of the laser-material-interaction was made to get a better understanding of the laser ablation process. This was done by the generation of laser-induced periodic surface structures where the influence of the liquid characteristics on the formation mechanism was shown.

Using this synthesis route, composites of various compositions were prepared, which could be electrospun to a fiber network functioning as wound coverage or bioextruded to scaffolds. These systems showed a stable embedding of nanoparticles in the polymer matrix and a good biocompatibility. Ion release studies verified a continuous ion release of one or more elements for at least 105 h. After the determination of the content of ions in a wound at different wound healing durations using the skin of rats, it could be shown that the composite materials could be used to support all stages of wound healing. Additionally, the release of ions from iron nanoparticles led to an improved cell adhesion and viability of human endothelial cells, as well as first experiments showed an influence on the early differentiation of stem cells.

The studies of this work demonstrated, that the prepared nanoparticle-polymer composites could be quickly adapted for different applications due to their easy and flexible synthesis route. Therefore they could be used in many fields of medicine.

1. Einleitung

Die frühe Erkennung und medizinische Behandlung von Krankheiten und Verletzungen stellen die wichtigsten Aspekte der modernen Medizin dar. Als vielversprechende Entwicklung zeigt sich der Einsatz von Nanopartikeln in verschiedenen medizinischen Bereichen. [1] [2] [3] Neben der Verbesserung von diagnostischen Methoden, wie der Tumorerkennung durch Eisen- und Gold-Nanopartikel [2] [3] [4], und dem gezielten Wirkstofftransport im Körper [2] [3] stellen auch die Unterstützung von Wundheilungsprozessen sowie die künstliche Gewebeneubildung wichtige Anwendungsbereiche dar. Verbrennungen betreffen beispielsweise jährlich mehr als 1900 Menschen in Deutschland, die in einer speziellen medizinischen Einrichtung behandelt werden müssen. [5] [6] [7] Brandverletzungen können in allen Bereichen des Lebens entstehen und somit jeden treffen. Da die Wundheilung einen langen Zeitraum mit einer hohen Infektionsgefahr in Anspruch nimmt, ist eine wundheilungsfördernde Behandlung zur Verkürzung der Heilungsdauer durch beispielsweise Wundauflagen mit Zinkoxid [8] [9] wünschenswert. Ist eine oberflächliche Behandlung nicht ausreichend, so sind Mediziner auf Ersatzmaterialien angewiesen, um defektes Gewebe zu ersetzen. Um dieses künstliche Gewebe zu erzeugen, werden Gerüste, sogenannte Scaffolds, benötigt, auf dem die Zellen wachsen können. [10] [11] [12] Das Wachstum der Zellen auf diesem Gerüst kann sowohl im Körper (*in vivo*) als auch im Labor (*ex vivo*) erfolgen, wonach das künstliche Gewebe in den Körper implantiert wird. Als Scaffold-Material und Wundauflage bieten sich Kompositmaterialien an, bei denen die essentiell notwendige Material-Zell-Interaktion durch die Inkorporation von metallischen Nanopartikeln verbessert werden kann. [13] Viele Elemente, insbesondere Eisen, Zink und Kupfer, sind bekannte essentielle Bestandteile im menschlichen Körper und beteiligt an vielen Enzym- und Zellreaktionen, auch während der Wundheilung und Zellneubildung. [14] Kontinuierlich freigesetzte Metallionen aus dem Kompositmaterial sind daher vielversprechende Wirkstoffe, um die Material-Zell-Interaktion zu verbessern, bzw. die Wundheilung zu unterstützen. Als Wirkstoffdepots sind lasergenerierte Nanopartikel neben ihrem großen Oberflächen-zu-Volumen Verhältnis aufgrund ihrer hohen Reinheit besonders gut geeignet und zeigen als Ionendepots eine gute Freisetzungsrate. [15] [16] [17] Zur Immobilisierung von Nanopartikeln in einer Matrix haben sich Polymere bereits mehrfach als geeignet herausgestellt. [13] [18] [19] [20] [21] [22] [23] Neben Homopolymeren können dazu auch Copolymere, wie Mikrogele, oder Hydrogele

verwendet werden. Aufgrund der Nanopartikelherstellung mittels gepulstem Laserabtrag kann auf Stabilisierungsreagenzien und Precursoren, die einen potentiellen negativen Effekt auf Zellen haben könnten [24] [25], verzichtet werden. Der Abtrag in Wasser führt zu hochreinen Partikeln [26], jedoch ebenfalls zu dem Problem der Aggregation der Partikel falls keine Stabilisierungsreagenzien zugesetzt werden [25] [27] [28] [29]. Insbesondere Nichtedelmetalle erfordern eine sterische Stabilisierung durch den Einsatz von Polymeren. [19] [27] [30] [31] [32] Durch den Laserabtrag können die Nanopartikel *in situ* in die Polymermatrix eingebettet werden. Der Abtrag in rein wässrigem Milieu vermeidet zusätzlich das Problem der Nebenprodukte, die durch Pyrolyse und Degradation des Solvens beim Einsatz von organischen Lösungsmitteln entstehen. [27] [33] [34] [35]

Es ist ersichtlich, dass der Prozess des Laserabtrags dabei einen zentralen Aspekt der Synthese darstellt. Um diesen optimal zur Nanopartikel-Generierung einsetzen zu können, ist ein genaues Verständnis des Zusammenspiels verschiedener Parameter, wie Prozess-, Fluid- und Materialparameter notwendig.

Diese Arbeit soll einen Beitrag dazu leisten solche Nanopartikel-Polymer-Komposite über eine vollständig wässrige Syntheseroute herzustellen, den Produktionsprozess und das Kompositmaterial zu charakterisieren, diese zu Wundauflagen und Scaffolds weiterzuverarbeiten und ihre potentielle biologische Wirksamkeit für einen späteren Einsatz in der Brandwundenversorgung und gezielten Gewebeneuzüchtung zu bestimmen (Abb. 1).

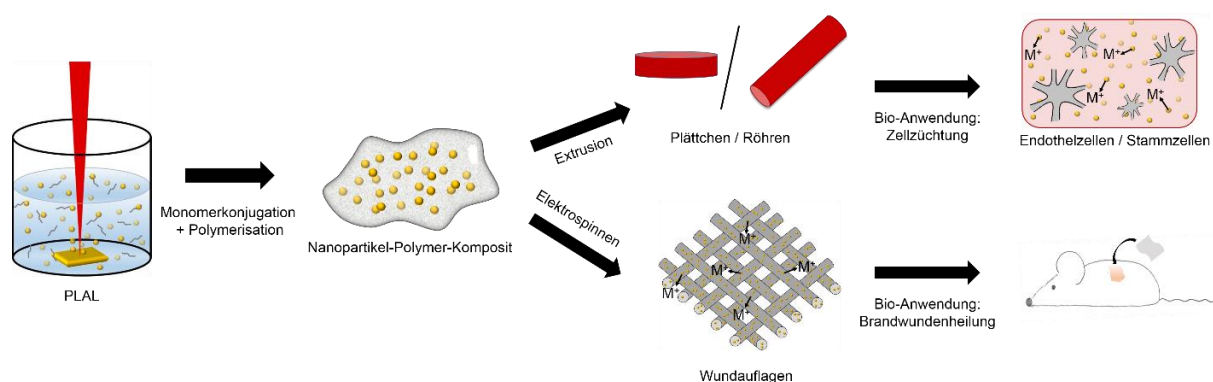


Abbildung 1: Darstellung der Zusammenhänge der behandelten Themenbereiche.

2. Theoretische Grundlagen

2.1 Wundheilung und Zellwachstum

Die Haut stellt eines der wichtigsten Organe des Menschen dar. Sie bildet die natürliche Barriere zwischen dem menschlichen Körper und der Umwelt. [36] Daher sind Verletzungen der Haut potentiell lebensgefährlich, wenn der Schutz vor äußeren Einflüssen, wie Bakterien, zerstört wird. Eine besonders schwere Hautverletzung stellt die Verbrennung dar. Die neueste Statistik für Verbrennungen in Deutschland aus dem Jahre 2014 verzeichnet 1953 Opfer, die mit Brandwunden in ein Verbrennungszentrum eingeliefert wurden. [7] Von diesen Verletzungen endeten 8,6 % tödlich. [7] Aus dieser Statistik geht ebenfalls hervor, dass 65,4 % der Unfälle zuhause passieren (vgl. Abb. 2) [7], was den Umstand verdeutlicht, dass Verbrennungen potenziell jedem widerfahren können.

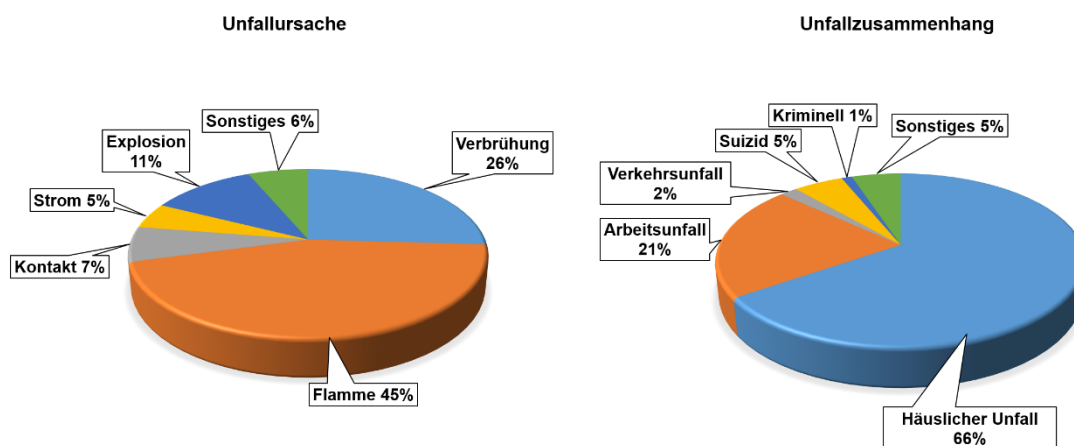


Abbildung 2: Gegenüberstellung von Ursachen und Unfallzusammenhängen von Brandverletzungen 2014.

Erstellt nach [7].

Vom Ausmaß einer Verbrennung lässt sich die notwendige Behandlungsweise ableiten. Der Schweregrad einer Verbrennungswunde wird in vier Kategorien eingeteilt. Bei einer Verbrennung ersten Grades treten lediglich Schwellungen, Rötungen und ein mittlerer bis starker Schmerz ein. Eine tiefe Zellschädigung erfolgt jedoch nicht. [37] [38] [in 39] [in 40] Durch das Auftragen von heilungsfördernden Salben kann die Wundheilung unterstützt werden und die Wunde heilt ohne Narbenbildung ab. [37] [in 40] Der zweite Grad einer Verbrennung impliziert eine Blasenbildung, Schmerzentwicklung und Schwellung und bedarf einer medizinischen Begutachtung, die je nach Schwere der Verletzung zur chirurgischen Versorgung führt. [37] [38] [in 39] [in 40] Ist eine Operation nicht notwendig, ist eine Behandlung

mit desinfizierenden Verbänden üblich, die in regelmäßigen Abständen ausgewechselt werden müssen. [37] [in 40] Im Gegensatz dazu muss eine Verletzung dritten Grades unausweichlich durch eine Operation und mit Hauttransplantaten behandelt werden. Das Verletzungsbild zeigt eine verfärbte, lederartige Haut sowie den Verlust von Haaren und Nägeln. Die Patienten empfinden bei diesem Schweregrad keine Schmerzen. [37] [38] [in 39] [in 40] Eine Verbrennung vierten Grades beinhaltet Wunden, die bis auf den Knochen reichen. [in 39] [in 40] Wie schwer eine Verbrennung einzustufen ist, hängt maßgeblich von dem Grad der Verbrennung und der prozentual verbrannten Körperoberfläche ab. [37] [in 40] Die Einstufung der Überlebenswahrscheinlichkeit des Patienten lässt sich zum Beispiel über den sogenannten ABSI (engl.: Abbreviated Burn Severity Index) vornehmen. Dabei werden je nach Geschlecht, Alter, Verbrennungsart und prozentual verbrannter Körperoberfläche Punkte vergeben, deren Summe eine Einschätzung der Lebensgefahr ermöglicht. So gilt für einen Index von 10-11 (beispielhaft für einen Mann von 41-60 Jahren mit einer Vollhautwunde auf 51-60 % der Körperoberfläche) eine Überlebenswahrscheinlichkeit von lediglich 20-40 %. [41] Brandwunden beeinflussen nicht nur die betroffenen Hautregionen, sondern wirken sich auf multiple Organe und Systeme im Körper aus. Mögliche Reaktionen des Körpers auf eine Brandwunde sind der Schock, Darmveränderungen, Versagen der Nieren und der Lunge sowie des Immunsystems. [38] Eine Ursache für eine gestörte Wundheilung ist das Auftreten von Infektionen, die für mehr als die Hälfte der Todesfälle verantwortlich sind. [37] [in 40] [42]

Treten keine Komplikationen während der Wundheilung auf, so erfolgt diese in drei Phasen, die sich zeitlich überlappen. [43] Sie beginnt in den ersten 48 h mit der Entzündungsphase (vgl. Abb. 3 a), in der die Blutung verletzter Gefäße gestoppt wird und Immunzellen aktiviert werden. [43] [44] [45] Schon kurz nach der Verletzung bildet sich Granulationsgewebe als Grundlage für die Re-Epithelialisierung (vgl. Abb. 3 b). [44] [45] Durch die Migration von Keratinozyten und deren Zellteilung durch Mitose, üblicherweise ausgehend vom Wundrand, wird innerhalb von etwa 2-10 Tagen neues Gewebe gebildet. [43] [44] Zudem wird die Proteinsynthese gesteigert. [44] In der letzten Phase, der Remodellierung (vgl. Abb. 3 c), führt die Produktion von Wachstumsfaktoren und Proteinen, wie Kollagen und Elastin, zur Wundkontraktion und Narbenbildung. [43] [44] [45] Diese letzte Phase kann einen Zeitraum von bis zu einem Jahr einnehmen. [43]

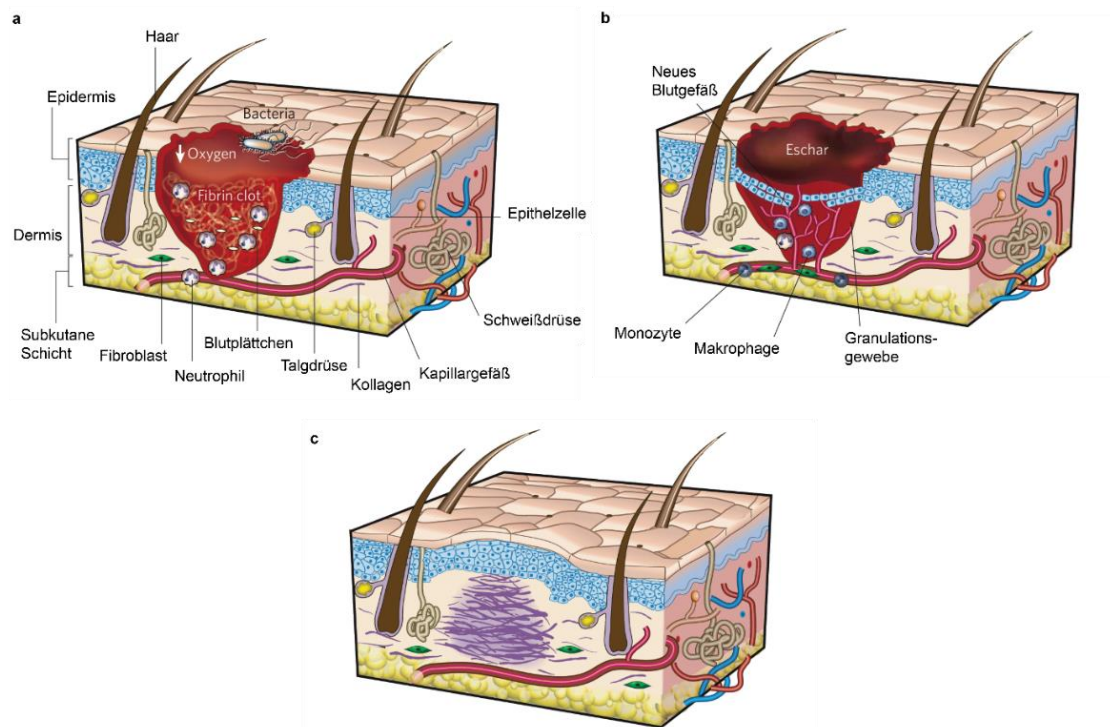


Abbildung 3: Darstellung der drei klassischen Wundheilungsstadien: Entzündungsphase (a), Re-Epithelialisierung (b) und Remodellierung (c). Erstellt nach [43].¹

Im Fall von schweren Verbrennungen müssen bereits unmittelbar nach der Verletzung erste Maßnahmen zur Versorgung getroffen werden. Bei der Erstversorgung von Brandwundenopfern ist zunächst die Sicherstellung der Atmung und des Herz-/Kreislaufsystems besonders wichtig. Der Wundbereich sollte mit Wasser oder feuchten Tüchern gekühlt werden. [37] [in 39] [in 40] [46] [47] Während der anschließenden ärztlichen Versorgung wird die Bakterienbelastung in der Wunde und im Blutbild untersucht. [37] [in 39] Nekrotisches Gewebe wird innerhalb von acht Stunden reduziert und nach drei Tagen komplett entfernt, wonach eine antibiotische Weiterbehandlung erfolgt. [37] [in 40] [47] Im Falle von gestörten Wundheilungen, z.B. durch Infektionen, werden zusätzlich zur gewöhnlichen Behandlung Antibiotika zur Keimreduzierung verabreicht. [in 40] Die verwendeten Verbände können in Kochsalzlösung getränkt werden, wodurch beim Trocknen das nekrotische Gewebe an dem Verband anhaftet und beim Materialwechsel mit entfernt wird. [47]

Die entstehenden Gewebeschädigungen durch Verbrennungen führen zudem zu einem gestörten Ionenhaushalt im Wundbereich. [14] [48] [49] Im menschlichen

¹ Adapted by permission from Macmillan Publishers Ltd: Nature, G. C. Gurtner, S. Werner, Y. Barrandon, and M. T. Longaker. Wound repair and regeneration. Nature, 453(7193):314-321, 2008, copyright 2008. <https://dx.doi.org/10.1038/nature07039>.

Körper ist eines der essentiellen Spurenelemente (Tagesbedarf < 100 mg [50]) Zink, welches an mehr als 200 enzymatischen Reaktionen beteiligt ist. [51] Explizit sind in Hautwunden DNA und RNA Polymerasen an der Heilung involviert, welche auf Zink angewiesen sind. [51] [52] [53] Weiterhin benötigen mehr als 70 Metalloenzyme im menschlichen Körper Zinkionen zur Ausübung ihrer Funktion. [50] [in 54] Weitere für die Wundheilung essentielle Spurenelemente sind Eisen und Kupfer. [in 54] Eisen ist fast vollständig an Proteine, wie Hämoglobin, Myoglobin, Häm-Enzyme, Transferrin und Ferritin [50], gebunden und dient hauptsächlich dem Sauerstofftransport im Blut [50] und der Bildung roter Blutkörperchen im Knochenmark. [50] Neben der Funktion als Cofaktor in Enzymen [50] ist Kupfer gebunden an Proteinen und Enzymen an der Hämoglobin-Synthese, dem Sauerstofftransport im Körper und an Prozessen des zentralen Nervensystems beteiligt. [50] [in 54] [in 55] Neben Kupfer wird auch Magnesium speziell zur Herstellung von Kollagen und Elastin benötigt. [14] [in 55] [in 56] Dieses Makroelement (Tagesbedarf > 100 mg [50]) liegt im Körper ebenfalls gebunden an Enzyme vor, vor allem an Adenosintriphosphat (ATP), [50] welches im Energiestoffwechsel des Menschen für die Speicherung und Freisetzung von Energie verantwortlich ist. [50] Demnach sind alle genannten Elemente zur Zellregeneration während der Wundheilung von essentieller Bedeutung.

Ein deutlicher Zinkmangel führt erwiesenermaßen zu einer Verschlechterung der Zellproliferation und Wundheilung. [57] Um das Problem des gestörten Ionenhaushalts zu lösen, wurden bereits einige Studien durchgeführt. Zur Behandlung von Hautwunden dienen schon jetzt Wundverbände, die mit Zinkverbindungen versetzt sind. [9] Es konnte gezeigt werden, dass die Zugabe von Zinkoxid auf einer Wundaufgabe eine Verbesserung der Epithelialisierung und eine Verminderung der Entzündungsreaktion durch Freisetzung von Zinkionen in die Wunde bewirkt. [51] Innerhalb dieser Studie konnte auch nachgewiesen werden, dass lediglich die Dosis der freigesetzten Zinkionen für die Wirkung wichtig ist, nicht aber die Art der zunächst verwendeten Zinkverbindung auf der Wundaufgabe. [51] Weitere ausgewählte Medizinprodukte, welche in der Wundheilung aufgrund von Ionenfreisetzungsprozessen verwendet werden, sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1: Ausgewählte Medizinprodukte zur unterstützten Wundheilung.

Produkt	Anwendungsart	ausgewählte Hersteller	wirksames Element	Referenz
Zinksalbe Lichtenstein®	Salbe	Winthrop Arzneimittel GmbH	Zink (als Zinkoxid)	[58]
Flammazine®	Creme	Sinclair Pharma GmbH	Silber (als Silbersulfadiazin)	[59]
Acticoat®	Verband	Smith & Nephew plc	Silber	[60]

Wie aus Tabelle 1 ersichtlich wird, sind hauptsächlich Produkte zur unterstützten Wundheilung im Einsatz, welche Zink oder Silber enthalten. Produkte mit Eisen, Magnesium oder Kupfer sind nach Recherche und nach bestem Wissen nicht im Einsatz. Ebenso sind Kombinationen von verschiedenen Elementen nicht vertreten, obwohl offensichtlich mehrere Elemente im Prozess der Wundheilung involviert sind.

Reicht eine Behandlung über Verbände oder Salben nicht aus, so kann die Heilung chirurgisch unterstützt werden, zum Beispiel durch die Transplantation von natürlichem oder künstlichem Gewebe. [in 40] [in 47] Die Herstellung von künstlichem Gewebe fällt in den Bereich des Tissue Engineering. Dies beinhaltet die Wiederherstellung von Gewebefunktionen nach einer Verletzung durch die künstliche Gewebeneubildung. [11] [61] Um ein brauchbares künstliches Gewebe zu züchten, müssen dreidimensionale Gerüste zusammen mit Zellen und biologischen Substanzen auf positive Weise interagieren. [10] [62] Das künstliche Gewebegerüst, auch Scaffold genannt, dient der Anhaftung von Zellen und deren dreidimensionalen Migration sowie Proliferation zur Bildung eines Gewebeersatzes. [12] Um mit Zellen zu interagieren, werden üblicherweise biodegradierbare Polymere verwendet, modifiziert durch den Zusatz von zum Beispiel Tricalciumphosphat [63], Calciumcarbonat [64], Hydrogele [65] oder Kohlenstoffnanoröhren [66] [67].

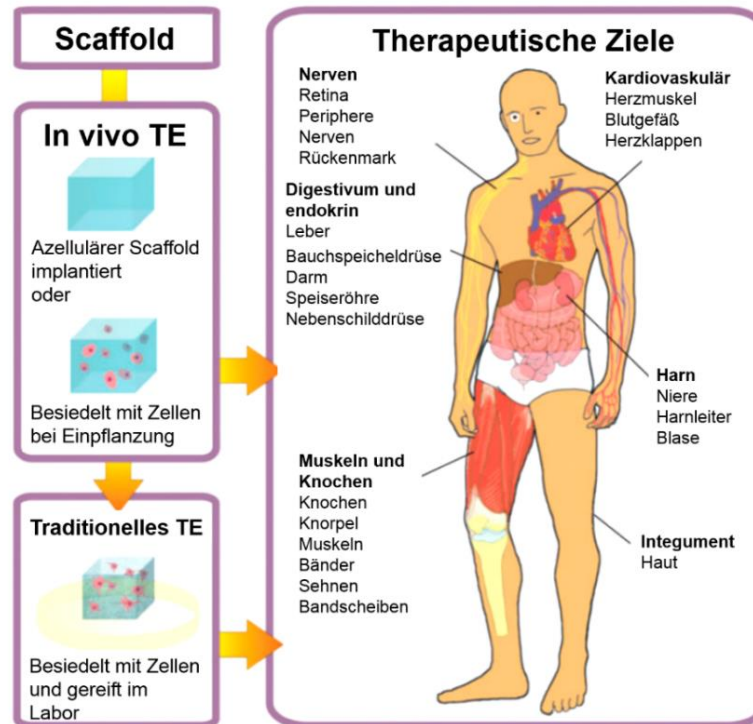


Abbildung 4: Einsatzmöglichkeiten von Scaffolds zur Gewebeneubildung. Erstellt nach [68].²

Die Zellen bewachsen das künstliche Gerüst und werden mit diesem in den Körper transplantiert, wo das Polymer mit der Zeit abgebaut wird. [69] Somit wächst das künstliche mit dem körpereigenen Gewebe zusammen. Die Oberfläche von Implantaten, die direkt in den Körper eingebracht werden, wird durch körpereigene Proteine bedeckt, an die dann letztendlich die Zellen koppeln. [70] Diese Kopplung wird sowohl durch die Implantatzusammensetzung, als auch durch die Oberflächenbeschaffenheit beeinflusst. [70] Zur Erhöhung der Biokompatibilität von metallischen und nicht-metallischen Implantaten existieren verschiedene Ansätze. Eine Beschichtung von metallischen Stentoberflächen mit beispielsweise Polyurethan kann unerwünschte Zellinteraktionen, wie die Anlagerung von Blutplättchen, verhindern. [71] Die Biokompatibilität kann aber auch zum Beispiel durch eine Beschichtung von metallischen Implantaten mit Kollagen verbessert werden. [72] Eine Oberflächenstrukturierung zur Verbesserung der Zellinteraktion kann entweder durch eine Oberflächenbehandlung, wie Ätzen oder Abtragen, oder über das Aufbringen von Nanopartikeln auf die Materialoberfläche erfolgen. [70]

² Adapted from E. S. Place, J. H. George, C. K. Williams, and M. M. Stevens. Synthetic polymer scaffolds for tissue engineering. Chemical Society Reviews, 38(4):1139-1151, 2009 with permission of The Royal Society of Chemistry. <http://dx.doi.org/10.1039/b811392k>.

Werden metallische Nanopartikel nicht auf eine Oberfläche aufgebracht, sondern in einem Polymernetzwerk fest eingebettet, so ist es ihnen möglich als Ionenquelle zu dienen. Wie in diesem Kapitel gezeigt, können diese Ionen zur Unterstützung von Wundheilungsprozessen genutzt werden. Im folgenden Kapitel wird auf die Nutzung und die Herstellung solcher Nanopartikel-Polymer-Komposite für medizinische Anwendungen näher eingegangen.

2.2 Nanopartikel-Polymer-Komposite

Der Begriff Nanokomposit beschreibt nach CEN ISO/TS 80004-4:2014 einen „Feststoff, der aus einem Gemisch von zwei oder mehr phasengetrenten Materialien besteht, von denen mindestens ein Material als Nanophase vorliegt“. [73] Die Erweiterung zum Polymer-Matrix-Nanokomposit beinhaltet, dass „mindestens eine polymere Hauptphase“ [73] beinhaltet ist. Es existiert eine Vielzahl an Kompositmaterialien, wobei in dieser Arbeit nur auf die Nanopartikel-Polymer-Komposite eingegangen werden soll. Der Begriff Nanopartikel kommt aus dem griechischen „nanos“ und bedeutet „Zwerg“. [74] Er steht für Nanoobjekte, die nach CEN ISO/TS 27687:2009 in „allen drei Außenmaßen im Nanomaßstab“ [75] liegen, was für einen „Größenbereich von 1 nm bis 100 nm“ [75] steht. Durch die Verbindung von Nanopartikeln und Polymeren können neue Materialien hergestellt werden, deren Eigenschaften für spezielle Anwendungen, z.B. im medizinischen Bereich, optimiert sind. Für eine nähere Betrachtung von Nanopartikel-Polymer-Kompositen sollen zunächst weitere Grundbegriffe definiert werden.

2.2.1 Polymere, Mikro- und Hydrogele

Polymere sind Makromoleküle, die aus sich wiederholenden Einheiten von Monomeren bestehen. [76] Polymere lassen sich in verschiedene Untergruppen einteilen. Sogenannte Homopolymere enthalten eine Monomerart, Copolymere hingegen bestehen aus einer unterschiedlichen Anzahl verschiedener Monomerkomponenten. [76] Copolymere können wiederum anhand der Abfolge der Wiederholungseinheiten unterteilt werden. Alternierende Copolymere enthalten die Wiederholungseinheiten in regelmäßig abwechselnder Reihenfolge [76] [77], statistische Copolymere zeigen keine Ordnung der Untereinheiten [76] [77] wohingegen Blockcopolymere Blöcke der gleichen Struktureinheit aufweisen. [76] [77] Die Makromoleküle können entweder linear vorliegen oder durch eine Vernetzung untereinander ein weites oder enges Netzwerk bilden, wodurch die Eigenschaften des Polymers beeinflusst werden. [76]

Eine Kategorie vernetzter Makromoleküle stellen die sogenannten Mikrogele dar. [78] Mikrogele sind kolloidale Partikel im Größenbereich von 50 nm bis 100 µm [79], die sensitiv auf äußere Stimuli, wie zum Beispiel die Temperatur [80] [81] oder den pH-Wert [81] reagieren. Sie besitzen eine kritische Lösungstemperatur (engl.: lower

ein Beispiel für Hydrogelsysteme. Es handelt sich hierbei um ein Polysaccharid [88] [89], das unter anderem aus der Braunalge gewonnen wird. [90] Die Monomereinheiten sind α -L-Guluronsäure und β -D-Mannuronsäure (vgl. Abb. 6) [87] [88] [91] [92], welche in unterschiedlichen Verhältnissen und Anordnungen zueinander im Alginat vorhanden sein können. [89] [93] Durch die Zugabe von bivalenten Kationen, wie Ca^{2+} aus Calciumchlorid, findet eine milde Gelierung statt. [84] [90] [93] [94] Dabei bilden die bivalenten Kationen die Vernetzung zwischen den enthaltenen Guluronsäure-Einheiten aus. [95] Durch seine sehr niedrige Toxizität und hohe Biokompatibilität [92] wird Alginat häufig im Bereich der Pharma- und Lebensmittelindustrie [88] [96], sowie für Wundauflagen und als Arzneimittelabgabe-System verwendet. [87] [88]

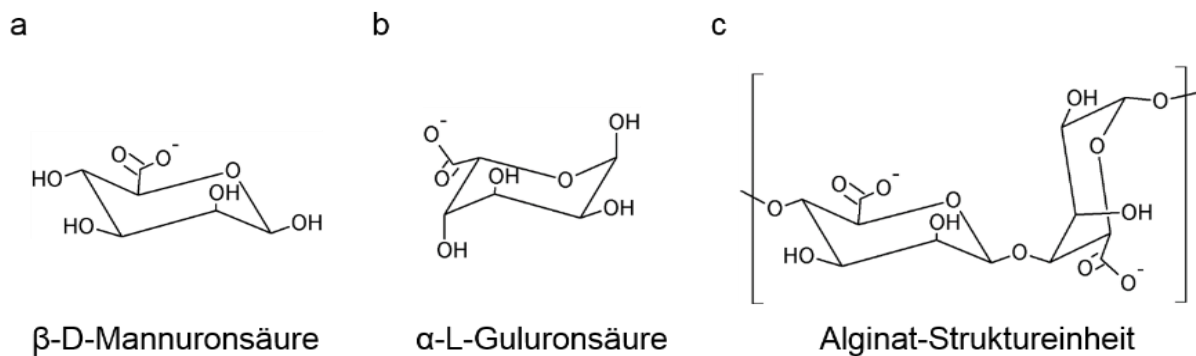


Abbildung 6: Monomereinheiten des Alginats (a, b) und eine mögliche Monomerabfolge im Alginat (c). Erstellt nach [88].⁴

2.2.2 Nanopartikel-Polymer-Komposite für die biomedizinische Anwendung

Nanopartikel-Polymer-Komposite werden häufig für biomedizinische Anwendungen, wie für antibakterielle Implantate und Katheter, verwendet. [97] Die Einbettung von Nanopartikeln in eine Polymermatrix verändert unter anderem die physikalischen und rheologischen Eigenschaften des Materials. So konnte von Hsu *et al.* gezeigt werden, dass durch die Konjugation von Polyurethan mit 5 nm Gold-Nanopartikeln eine erhöhte Oberflächenrauheit und dadurch eine verbesserte Proliferation von Fibroblasten und zudem eine verschlechterte Zelladhäsion von Bakterien erzielt werden konnte. [23] Ein verbessertes Zellwachstum (Endothelzellen) aufgrund vermuteter Oberflächen-

⁴ Adapted from P.Gacesa. Alginates. Carbohydrate Polymers, 8(3):161-182, 1988, with permission from Elsevier. [http://dx.doi.org/10.1016/0144-8617\(88\)90001-X](http://dx.doi.org/10.1016/0144-8617(88)90001-X).

modifizierung konnte auch von Hess *et al.* bestätigt werden. [13] Zudem zeigte diese Studie, dass durch die integrierten Gold- bzw. Platin-Nanopartikel die Hydrophilie des Komposits erhöht wurde, was ebenfalls die Zelladhäsion fördert. [13]

Die Zelladhäsion und –proliferation sind die wichtigsten Voraussetzungen zur Herstellung eines Scaffolds, da diese Prozesse den Grundstein zur Bildung neuen Gewebes darstellen. Hydrogele, z.B. Alginat, die eine strukturelle Ähnlichkeit zur extrazellulären Matrix, der Flüssigkeit im Zwischenraum von Zellen [36], aufweisen, werden zurzeit häufig als künstlicher Gewebeersatz verwendet. [92] [94] Alginat ist in Säugetieren nicht degradierbar, kann durch Freisetzung von bivalenten Kationen aber gelöst, nicht jedoch vom Körper restlos ausgeschieden werden. [87] [98] Da dieses Material keine Liganden für die Zelladhäsion besitzt, wird es in der Regel mit Proteinen, wie Kollagen, Fibronektin, Laminin oder RGD, modifiziert. [99] [100] [101] [102] Aber auch eine Einbettung von Silber- und Gold-Nanopartikeln in Natrium-Alginat konnte bereits realisiert werden. [91] [96] [103]

Neben den Ersatzmaterialien zur Gewebeneubildung sind auch wundheilungsfördernde Materialien sowie Träger für Wirkstoffsysteme für die Medizin von besonderem Interesse. In beiden Fällen können Mikrogele als Basismaterial dienen. Im Bereich der Wirkstoffträger befindet sich der Wirkstoff im Inneren der Mikrogele und wird im Körper durch Aufquellen des Gels freigesetzt. [104] Bei Wundauflagen findet die Förderung der Wundheilung durch die Freisetzung von Ionen, zum Beispiel aus Nanopartikeln, statt. Es existieren drei Arten von Nanopartikel-beladenen Mikrogele. Im ersten Fall ist das Mikrogel komplett gefüllt mit Nanopartikeln, im zweiten Fall sitzen die Nanopartikel auf der Oberfläche des Mikrogeles und im dritten Fall liegt eine Kern-Hülle Struktur vor, bei der der Nanopartikel der Kern ist und das Mikrogel die Hülle bildet. [78]

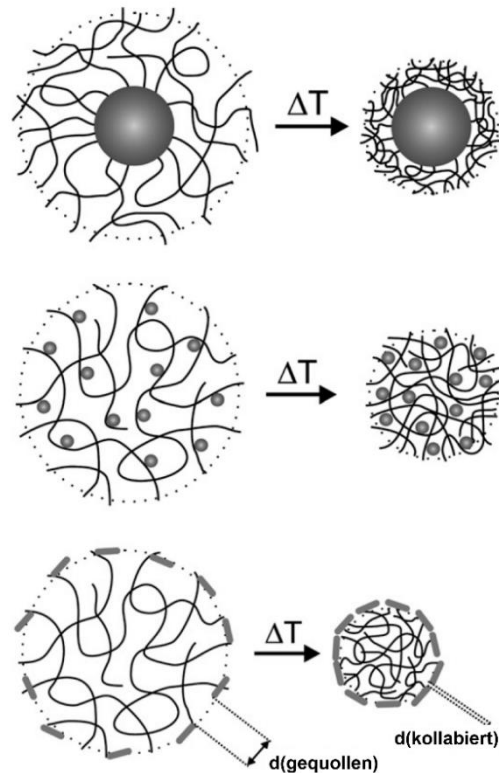


Abbildung 7: Darstellung der Nanopartikel-Mikrogel Strukturen: oben: Mikrogel mit Kern-Hülle Struktur, Mitte: Mikrogel gefüllt mit Nanopartikeln, unten: Mikrogel mit Nanopartikeln auf der Oberfläche des Gels. Erstellt nach [78].⁵

Auch hier können entweder die Nanopartikel in Gegenwart des Mikrogels hergestellt oder bereits synthetisierte Nanopartikel in das Mikrogel während dessen Entstehung eingekapselt werden. [79] Das in dieser Arbeit verwendete Mikrogelsystem PVCL/AAEM wurde schon in mehreren Studien mit chemisch hergestellten Nanopartikeln beladen. Das Resultat sind sphärische Mikrogele [20] [80], deren hydrodynamischer Durchmesser mit zunehmender Beladung an Nanopartikeln abnimmt. [20] Durch die Nanopartikel wird zudem die thermische Stabilität des Komposits erhöht. [20] Das Mikrogel fungiert auch hier als sterischer Stabilisator [20], es konnten aber auch zum Teil nicht vollständig bedeckte Nanopartikel vorgefunden werden. [105] Für die Nutzung als Wundauflage müssen diese Nanopartikel-Mikrogel-Komposite auf einem Trägersystem immobilisiert werden. Dazu kann ein Fasermaterial verwendet werden, das mit dem Komposit vermischt und dann zu einer Wundauflage *via* Elektrospinnen verarbeitet wird. Das in dieser Arbeit verwendete Fasermaterial ist Poly- ϵ -Caprolacton (PCL). Es konnte bereits gezeigt werden, dass

⁵ Adapted from M. Karg, and T. Hellweg. Smart inorganic/organic hybrid microgels: Synthesis and characterization. *Journal of Materials Chemistry*, 19:8714-8727, 2009, with permission of The Royal Society of Chemistry. <http://dx.doi.org/10.1039/b820292n>.

die Lasergenerierung von Zinkoxid- (ZnO) Nanopartikeln in Gegenwart von ϵ -Caprolacton in Tetrahydrofuran (THF) und simultaner Polymerisation, sowie anschließend Elektrosponnen zu Fasern mit homogen verteilten Nanopartikeln führt. [106] Zudem konnte mit chemisch hergestellten ZnO-Nanopartikeln in einer PCL-Faser gezeigt werden, dass in einer subkutanen Hautwunde bei Schweinen eine erhöhte Fibroblastenproliferation und eine bessere Wundkontraktion erzielt werden konnten. [8]

Für eine medizinische Wirkung ist lediglich die Freisetzung der Ionen aus dem Komposit gewünscht, nicht aber die der Nanopartikel, da diese negative Effekte im Körper auslösen könnten. [97] [107] So zeigten in einer Studie Zinkoxid-Nanopartikel eine toxische Wirkung auf humane Fibroblasten (FB) bis hin zum Zellsterben. [108] Auch Eisenoxid-Nanopartikel verursachen eine zytotoxische Wirkung auf humane Keratinozyten (h-KC). [109]

Die Freisetzung von Ionen aus einem Nanopartikel-Polymer-Komposit basiert auf dem Prinzip der Korrosion und Diffusion [17] [110] und findet in drei Schritten statt (vgl. Abb. 8).

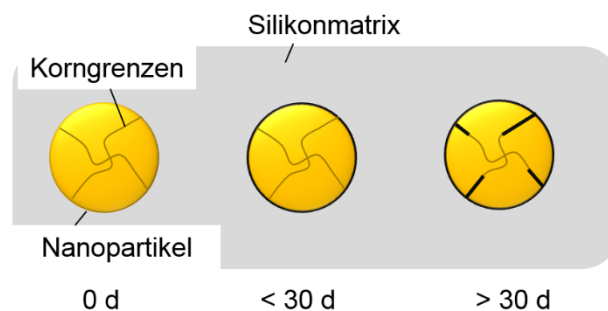


Abbildung 8: Schematische Darstellung des Mechanismus der Ionenfreisetzung am Beispiel eines Nanopartikels in einer Silikonmatrix. Erstellt nach [111].

Zunächst diffundiert das Lösungsmittel, z.B. Wasser, in die Polymermatrix hin zu den Nanopartikeln. [112] [113] Dort findet eine Oxidation der Partikeloberfläche statt, die sich dann an den Korngrenzen fortsetzt. [113] Die freigesetzten Ionen diffundieren aus der Matrix heraus in das umgebende Lösungsmittel. [113] [114] [115] Der Prozess der Auflösung kann unter anderem beeinflusst werden durch die Eigenschaften des Lösungsmittels, wie dem pH-Wert, der Konzentration oder der Ionenstärke. [114] [116] Des Weiteren ist die Freisetzungsgeschwindigkeit abhängig von der Partikelgröße. So lösen sich kleinere Partikel schneller auf als große, da sie bei gleicher Massenbeladung eine größere Oberfläche aufweisen. [114] [116] [117] An dieser

Oberfläche befindet sich die Diffusionsschicht, die bei kleinen Partikeln dünner ist als bei großen Partikeln und somit zu einer schnelleren Diffusion durch schnelleren Stofftransport und somit schnelleren Freisetzung aus dem Material führt. [114] [118] Zusätzlich wird die Freisetzung bedingt durch den Oxidationszustand der metallischen Partikel und deren Löslichkeit. [113] Die Agglomeration von Partikeln („Ansammlung schwach gebundener Partikel“ [75]) führt zur Ausbildung von negativen Krümmungen (konkave Oberfläche), wodurch die Oberfläche verringert, die Löslichkeit der Partikel reduziert und die Freisetzung verringert wird. [in 114] Werden Partikel in einer Matrix immobilisiert, bedecken also Liganden seine Oberfläche, so wird eine zusätzliche Diffusionsbarriere aufgebaut und die Freisetzung verlangsamt. [114] [119] Diese Diffusionsbarriere beeinflusst dabei nicht nur die Diffusion der Ionen aus der Matrix heraus, sondern auch die Diffusion von Wasser durch die Matrix zum Partikel hin und verlangsamt dadurch die Ionenfreisetzung. Die Wasseraufnahme des Polymers wird bestimmt durch seine chemischen Eigenschaften, wie der Vernetzung und Hydrophilie. Je hydrophiler das Polymer ist, desto einfacher kann Wasser aufgenommen werden, zu den Partikeln diffundieren und zur Freisetzung von Ionen aus Nanopartikeln führen. [17] [115] [120] Stellen die Liganden eine kompakte Polymermatrix dar, so beeinflusst die Lage der Nanopartikel in der Matrix, also der Diffusionsweg vom Partikel aus der Matrix hinaus und Wasser hin zum Partikel [112], die Freisetzungsgeschwindigkeit. [106] [121] Partikel, die an der Oberfläche der Matrix liegen, werden schneller freigesetzt als solche, die im Inneren liegen, da sie in direktem Kontakt zum Lösungsmittel stehen und einen wesentlich geringeren Diffusionsweg durch die Matrix haben. [110] [121] Zudem ist es möglich, dass manche Liganden, wie zum Beispiel Citrat, selbst in der Lage sind die freigesetzten Ionen zu reduzieren und somit die Freisetzung zu hemmen. [119]

Die Kinetik von Ionenfreisetzungen kann über verschiedene Modelle beschrieben werden. In der Literatur existiert eine Vielzahl an Modellen, von denen an dieser Stelle nur fünf näher betrachtet werden sollen.

Langsame Freisetzungen, wie bei Medikamenten, werden üblicherweise durch eine Kinetik nullter Ordnung beschrieben. [122] [123] Dabei findet keine Veränderung der Freisetzungsoberfläche statt und es stellt sich zu keinem Zeitpunkt ein Gleichgewicht im System ein. [122] Mathematisch beschreibt folgende Formel die Ionenfreisetzung: [124] [122]

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_0 * t \quad \text{Gl.1}$$

Dabei ist M_t die freigesetzte Substanzmenge zum Zeitpunkt t , M_∞ die gesamt enthaltene Menge Substanz und k_0 die Konstante der Auflösungsgeschwindigkeit. [122] Eine Auftragung der Freisetzungsrates gegen die Zeit zeigt dabei einen linearen Zusammenhang. [122]

Eine Kinetik erster Ordnung beschreibt eine konzentrationsabhängige Freisetzung [111] und folgt dem Zusammenhang: [125] [126]

$$\frac{M_t}{M_\infty} = M_S * (1 - e^{-k_1 t}) \quad \text{Gl.2}$$

M_S ist dabei die freigesetzte Substanzmenge nach unendlicher Zeit und k_1 die Freisetzungskonstante. [111] Eine Auftragung der Freisetzungsrates gegen die Zeit folgt einer Exponentialfunktion.

In Anlehnung der Kinetik erster Ordnung folgt die Kinetik zweiter Ordnung folgendem Zusammenhang: [111]

$$\frac{M_t}{M_\infty} = b + M_{S1} * (1 - e^{-\frac{t}{k_1}}) + M_{S2} * (1 - e^{-\frac{t}{k_2}}) \quad \text{Gl.3}$$

Das Korsmeyer-Peppas Modell, auch Power law genannt, basiert auf dem Fick'schen Diffusionsgesetz [122] [123] und folgt der Formel: [124] [126] [127]

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_{KP} * t^{\varphi_{KP}} \quad \text{Gl.4}$$

K_{KP} beschreibt die Freisetzungskonstante und φ_{KP} den Diffusionskoeffizienten. [111] [123] [124] Letzterer ist ein Maß zur Bestimmung des Transportmechanismus während der Freisetzung. [111] [124] Dabei ist die Geometrie der Substanzen ein wichtiger Aspekt. Für Dünnschichten entspricht $\varphi_{KP} = 0,5$ einer Fick'schen Diffusion, $\varphi_{KP} > 0,5$ Nicht-Fick'scher Diffusion und $\varphi_{KP} = 1$ einer Freisetzung nullter Ordnung. [124] [127] Für Zylinder ist die Grenze zwischen Fick'scher Diffusion und Nicht-Fick'scher Diffusion bei 0,45, bei Kugeln bei 0,43 gesetzt. [124] Dieses Modell gilt nur für die Diffusion in eine Richtung, für ideale Freisetzungsbedingungen und ausschließlich für die ersten 60 % der Freisetzung ($M_t/M_\infty \leq 0,6$). [111] [124] [127] Als ideale Freisetzungsbedingungen gelten Isothermie, konstante initiale Substanzkonzentrationen, konstante Oberflächenkonzentrationen und eindimensionale Freisetzungen. [124]

Ebenfalls nur für ideale Freisetzungsbedingungen, Diffusion in eine Richtung und die ersten 60 % der Freisetzung gilt das Modell von Higuchi. [111] [124] Dieses Modell beschreibt die Freisetzung von dispergierten Feststoffen aus einer festen, unlöslichen Matrix, basierend auf der Fick'schen Diffusion. [122] [128] Dieses Modell folgt der Annahme, dass die Partikel wesentlich kleiner als die Schichtdicke der Matrix sind und homogen in dieser verteilt vorliegen. [123] [128] Die Matrix selber ist ein dünner Polymerfilm und zeigt weder eine Quellung noch eine Auflösung. [123] [124] [128] Man unterscheidet hier zwischen einer homogenen und heterogenen Matrix. Folgende Annahmen werden dazu getroffen: In einer homogenen Matrix ist die Substanzkonzentration zu Beginn wesentlich höher als die Löslichkeit, während in heterogenen Matrices die Konzentration wesentlich kleiner ist und die Diffusion über Poren erfolgt. [123] Bei homogenen Matrices gilt Gleichung 5, bei heterogenen Gleichung 6. [122] [123] [128]

$$\frac{M_t}{M_\infty} = \sqrt{\varphi_H * (2C - C_S) * C_S * t} \quad \text{Gl.5}$$

$$\frac{M_t}{M_\infty} = \sqrt{\frac{\varphi_H * \delta}{\xi} * (2C - \delta C_S) * C_S * t} \quad \text{Gl.6}$$

Mit φ_H dem Diffusionskoeffizienten nach Higuchi, C der Substanzkonzentration zu Beginn, C_S der Substanzlöslichkeit, δ der Porosität und ξ der Windung der Matrix. [111] [123] [128] Aus diesen Gleichungen lässt sich eine vereinfachte Higuchi Gleichung ableiten: [111] [122] [126]

$$\frac{M_t}{M_\infty} = \frac{4}{l} * \sqrt{\frac{\varphi_H * t}{\pi}} = k_H * t^{0,5} \quad \text{Gl.7}$$

Hier bezeichnet l die Dicke des Polymerfilms und k_H die Higuchi Freisetzungskonstante. [111] [122] [123]

Mithilfe dieser verschiedenen Modelle lassen sich die Freisetzungskinetiken von Nanopartikeln aus unterschiedlichen Matrices definieren. Die Freisetzung von Kupferionen aus einer Polyethylen Matrix, untersucht von Cai *et al.*, zeigte eine sprunghafte Freisetzung innerhalb des ersten Monats, wonach ein Freisetzungsverlauf nach der Kinetik nullter Ordnung folgte. [110] Die Rate an freigesetztem Kupfer konnte dabei durch Erhöhung der Nanopartikel-Beladung ebenfalls erhöht werden [110], was auch für Silber-Nanopartikel beobachtet wurde. [117]

Die laserbasierte Herstellung von Nanopartikel-Polymer-Kompositen bietet zusätzlich den großen Vorteil der Möglichkeit der Erzeugung multifunktionaler Materialien durch den Abtrag mehrerer Targets in derselben Lösung. [97] Die simultan im Material vorliegenden Elemente beeinflussen jedoch gegenseitig ihre Freisetzungsraten (vgl. Abbildung 9).

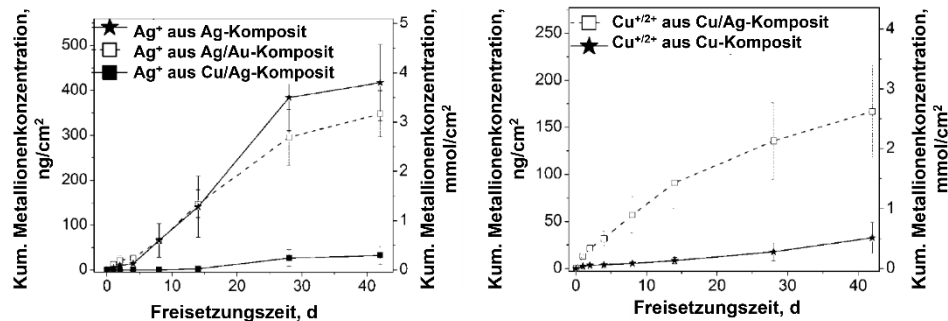


Abbildung 9: Einfluss von Materialkombinationen auf die Silber-Ionenfreisetzung. Die Beladung mit Nanopartikeln beträgt jeweils 0,5 wt% für jedes Element. Erstellt nach [16].⁶

Es konnte gezeigt werden, dass bei Elementkombinationen das unedlere Element (eingeordnet nach der elektrochemischen Spannungsreihe) stärker freigesetzt wird als das edlere [15] [16], da es auf Basis der Spannungsreihe ein höheres Potential zur Oxidation besitzt. [111] Außerdem wird die Freisetzung des edleren Elements bei der Kombination, im Vergleich zur Einzelbeladung, durch das unedle Element gehemmt. [15] [16] Im Gegenzug dazu wird die Freisetzung des unedlen Elements durch das edlere gesteigert. [15] [16] Dieser Effekt wird von Hahn *et al.* darauf zurückgeführt, dass die freigesetzten Ionen des edleren Elements, durch Reaktion mit den Nanopartikeln des unedleren Elements, reduziert und das unedlere Element oxidiert wird. Dadurch entsteht eine Reduzierung bzw. Beschleunigung der Ionenfreisetzung. [16] Dieser Mechanismus ist bei der Verwendung von Gold als ein Metallbestandteil nicht anwendbar, da dieses Element keine Ionen freisetzt.

Die durch die oben genannten Möglichkeiten beeinflussbare freigesetzte Konzentration an Ionen ist auch für die Wirkung im biologischen System von großer Bedeutung.

Es konnte gezeigt werden, dass Silber-Nanopartikel von Keratinozyten durch Endozytose aufgenommen werden können und sich in der Zelle ansammeln. [129]

⁶ Adapted from A. Hahn, S. Günther, P. Wagener, and S. Barcikowski. Electrochemistry-controlled metal ion release from silicone elastomer nanocomposites through combination of different metal nanoparticles. *Journal of Materials Chemistry*, 21:10287-10289, 2011, with permission of The Royal Society of Chemistry. <http://dx.doi.org/10.1039/c0jm04480f>.

Das resultierende vermehrte Zellsterben wurde auf die von den Nanopartikeln freigesetzten Ionen zurückgeführt, die eine erhöhte intrazelluläre reaktive Sauerstoffgenerierung verursachten. [129] Im Gegensatz dazu zeigte eine Forschung zur Wundheilung unter der Verwendung von Verbänden mit Silber-Nanopartikel-Beschichtung eine beschleunigte Heilung durch die Nanopartikel. [130] Zudem weisen sie eine antibakterielle Wirkung auf. [130]

Daraus ist deutlich ersichtlich, dass lediglich die Dosis darüber entscheidet, ob ein Stoff unwirksam, wirksam oder toxisch ist. Diese Bereiche werden durch das sogenannte therapeutische Fenster definiert. Dieses Fenster beschreibt den Konzentrationsbereich, in dem der jeweilige Stoff eine gewünschte Wirkung zeigt. Unterhalb dieses Konzentrationsfensters wird kein Effekt beobachtet, oberhalb treten negative Wirkungen ein. [131] [132]

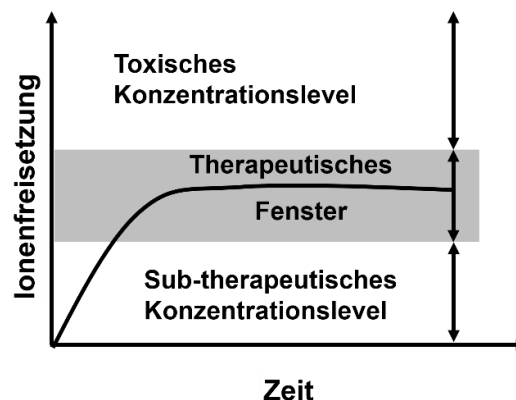


Abbildung 10: Schematische Darstellung der Definition des therapeutischen Fensters. Erstellt nach [132].⁷

So zeigte sich zum Beispiel bei Untersuchungen von Sowa-Söhle *et al.*, dass thermoplastisches Polyurethan eine antibakterielle Wirkung mit einem Silber-Nanopartikel-Gehalt im Bereich des therapeutischen Fensters von 0,05 wt% bis 1 wt% aufweist. [15]

Der große Vorteil der Verwendung von Kompositmaterialien zur Verabreichung von Wirkstoffen im Körper kann anhand eines Beispiels verdeutlicht werden. Erhält ein Patient über einen Zeitraum von mehreren Stunden mehrere Injektionen in definierten Zeitintervallen, so liegt die Wirkstoffkonzentration nur für kurze Dauer innerhalb des

⁷ Adapted from A. Hahn, T. Stöver, G. Paasche, M. Löbler, K. Sternberg, H. Röhm, and S. Barcikowski. Therapeutic window for bioactive nanocomposites fabricated by laser ablation in polymer-doped organic liquids. *Advanced Engineering Materials*, 12(5):B156-B162, 2010, with permission of Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. <http://dx.doi.org/10.1002/adem.200980071>.

therapeutischen Fensters (vgl. Abb. 11). [131] Bei der Verwendung eines Freisetzungssystems wird kontinuierlich der Wirkstoff freigesetzt und die Konzentration befindet sich für den Großteil der Behandlungsdauer innerhalb des therapeutischen Fensters. [131] Dies zeigt die vorteilhafte Verwendung von Kompositmaterialien als Ionenfreisetzungssystem für die medizinische Anwendung.

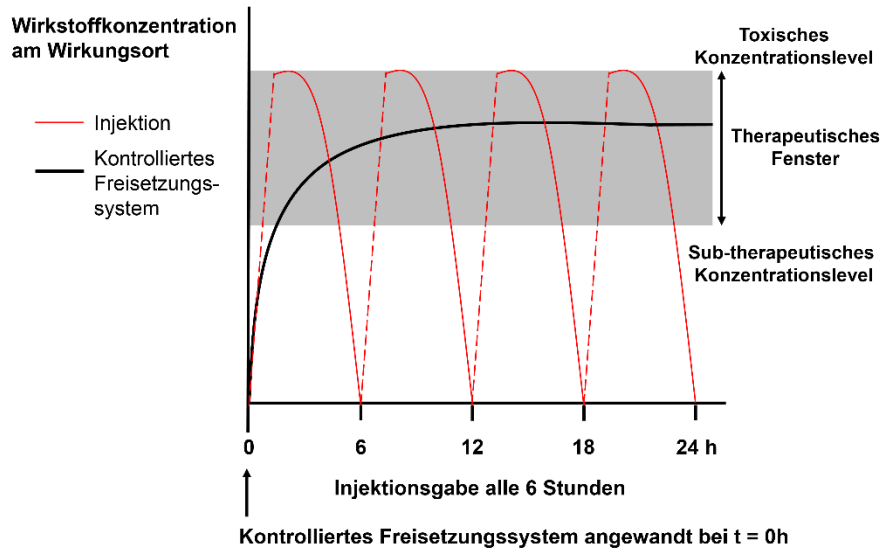


Abbildung 11: Wirkstoffkonzentration am Wirkungsort nach der Gabe über konventionelle Injektionen (dünne, rote Linie) und über konstante Freisetzungssysteme (dicke, schwarze Linie). Erstellt nach [131].⁸

2.2.3 Herstellung von Nanopartikel-Polymer-Kompositen

Die Herstellungsmöglichkeiten solcher Komposite können in drei Bereiche eingeteilt werden. Bei der Schmelzkompondierung wird das Polymermaterial zunächst aufgeschmolzen und das Nanomaterial in Pulverform hinzugemischt. [133] [134] Bei der Lösungskompondierung werden die Nanopartikel zusammen mit dem Polymer oder Monomer in Lösung gemischt, anschließend die Polymerisation durchgeführt und zuletzt das Lösungsmittel abgezogen. [133] Diese Verarbeitungsweisen führen zu einer homogenen Verteilung der Nanopartikel im Polymer, wobei jedoch auch Aggregate („Partikel aus fest gebundenen oder verschmolzenen Partikeln“ [75]) und Agglomerate beinhaltet sind. [134] [135] Der dritte Herstellungsweg ist das Sol-Gel-Verfahren. Die Edukte zur Synthese von Nanopartikeln werden im Polymer dispergiert, wodurch die Reaktion direkt in der Polymermatrix stattfindet. [133] Dadurch entstehen

⁸ Adapted with permission from K. E. Uhrich, S. M. Cannizzaro, R. S. Langer, and K. M. Shakesheff. Polymeric systems for controlled drug release. Chemical Reviews, 99(11):3181-3198, 1999. Copyright (1999) American Chemical Society. <http://dx.doi.org/10.1021/cr940351u>.

meistens Komposite, die eine homogene Partikelverteilung aufweisen. Der Nachteil dieser Herstellungsmethode liegt jedoch in den Rückständen meist toxischer Verläufersubstanzen, die während der Reaktion nicht umgesetzt wurden. [133] Dadurch sind diese Komposite häufig für medizinische Zwecke nicht verwendbar, oder müssen kostenintensiv aufgereinigt werden. [133] [136]

Eine Alternative zu diesen Methoden stellt der Laserabtrag in Flüssigkeiten dar. Die Herstellungsmöglichkeiten sind hier ähnlich wie die auf chemischem Syntheseweg. Zunächst besteht die Möglichkeit der separaten Generierung der Nanopartikel durch den Laserabtrag (wird in Kapitel 2.3 behandelt) und nachfolgender (*ex situ*) Konjugation mit dem Polymer. [97] [137] Die *In-situ*-Konjugation wird durch den direkten Abtrag des Targets in der Monomer- bzw. Polymerlösung umgesetzt. [137] Im Fall einer Monomerlösung muss diese im Anschluss noch polymerisiert werden. [97]

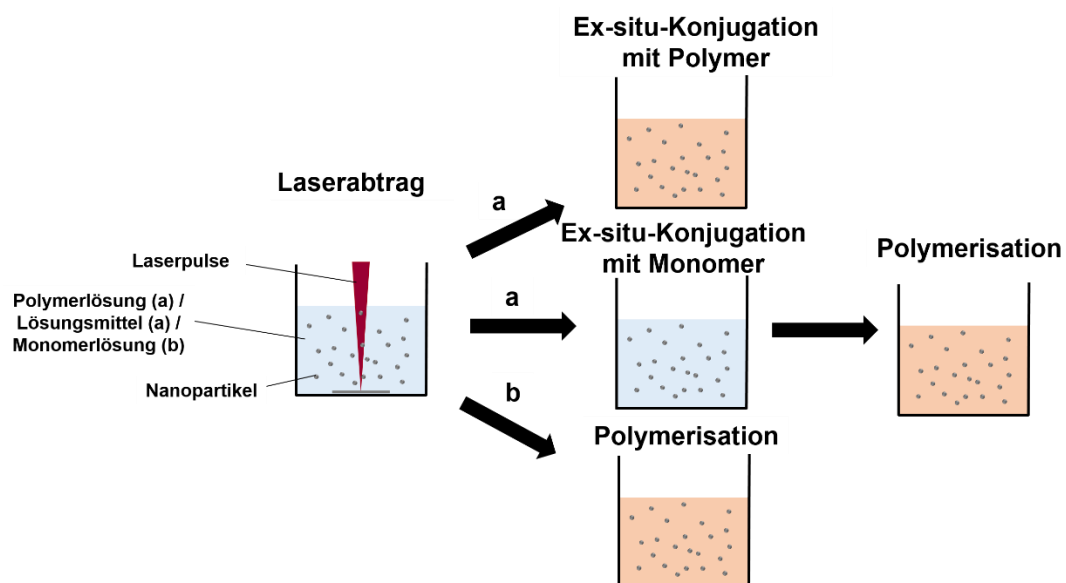


Abbildung 12: Schematische Darstellung der Nanokompositherstellung mittels dem Laserabtrag in organischen Lösungsmitteln (a), Polymerlösungen (a) und Monomerlösungen (b).

In der Gegenwart der Monomer- bzw. Polymermoleküle wird die Oberfläche der entstehenden Nanopartikel direkt mit diesen Molekülen bedeckt [137], wodurch eine sterische Stabilisierung eintritt. [19] Dies kann zum einen über Physisorption stattfinden, bei der die Polymerketten durch schwache physikalische Wechselwirkungen, wie van der Waals-Kräfte, Wasserstoffbrückenbindungen oder Dipol-Wechselwirkungen, auf der Oberfläche adsorbiert sind. [31] Zum anderen kann eine Chemisorption der Polymere auf der Oberfläche zu festen kovalenten Bindungen mit der Partikeloberfläche führen. [31] Durch beide Fälle erfolgt eine sterische

Abschirmung der Partikel untereinander, was die Bildung von Agglomeraten oder Aggregaten verhindert. [32] [83] Die *In-situ*-Methode wurde unter anderem zur Herstellung von Poly(methyl methacrylat) (PMMA) beladen mit Nanopartikeln aus Gold (Au), Silber (Ag) und einer Gold-Silber Legierung angewendet, wodurch Komposite entstanden, die keine Matrixbinder enthalten. [22] Wie von Wagener *et al.* anhand von Silber-Nanopartikeln in thermoplastischem Polyurethan (TPU) gezeigt werden konnte, wird durch das Polymer nicht nur die Größe der Nanopartikel reduziert, sondern auch eine homogene Partikelverteilung im Komposit erreicht, was anhand des Interpartikelabstandes quantifiziert werden kann. [19] Dieser Effekt konnte von anderen Arbeiten bestätigt werden. [13] [18] Auch eine Weiterverarbeitung, z.B. durch das Spritzgussverfahren, verändert die Dispersion und Größenverteilung der Nanopartikel nicht. [19]

Das Laserverfahren ist besonders gut dafür geeignet, um schnell Prototypen herzustellen, die eine eher niedrige Beladung von Kompositen erfordern, z.B. für Ionenfreisetzungssysteme und Medizintechnik. Diese können dann im Labormaßstab getestet und weiterentwickelt werden. Für einen industriellen Einsatz liefert das Laserverfahren bisher noch nicht die benötigte Nanopartikel-Produktivität. Für ein besseres Verständnis der Nanopartikel-Generierung über den Laserabtrag werden im Folgenden dieser Prozess und seine Einflussparameter näher betrachtet.

2.3 Lasergenerierung von Nanopartikeln in Flüssigkeiten

Als Alternative zur chemischen Synthese von Nanopartikeln wird seit einigen Jahren die Laserablation von Feststoffen in Flüssigkeiten als „grüne“ Alternative [25] durchgeführt, weiterentwickelt und charakterisiert. Dabei wird ein Target, z.B. ein Metallplättchen, des zu erzeugenden Nanomaterials in ein Gefäß mit dem gewünschten Lösungsmittel gegeben. Auf das Target wird ein Laserstrahl fokussiert, wodurch dieses abgetragen wird und die Nanopartikel generiert werden. [138]

Der Mechanismus der Generierung von Nanopartikeln durch den Laserabtrag kann in 6 Schritte eingeteilt werden. Bevor der Laserstrahl auf das Target trifft, penetriert er die Flüssigkeitsschicht über diesem. [27] Damit dies möglichst effizient erfolgt, sollte die verwendete Flüssigkeit transparent für die Wellenlänge des Lasers sein. [27] Im Zeitintervall vom Eintreffen des Laserstrahls auf der Targetoberfläche bis zur Dauer des Pulses werden die Photonen vom Material absorbiert [27] [25] und es findet eine lokale Schmelze des Metalls statt [139], wonach innerhalb von 10^{-12} s bis 10^{-10} s das abgetragene Material vom Target abgelöst wird. [27] Bis zu einer Dauer von 10^{-7} s nach Eintreffen des Pulses expandiert ein Plasma, gefüllt mit dem abgetragenen Material, und verursacht eine Schockwelle. [27] [139] [140] Die von diesem Plasma ins Medium abgegebene Energie führt zum lokalen Verdampfen des Lösungsmittels und zur Bildung und Expansion einer Kavitationsblase [27] [140], sowie deren Kollaps innerhalb von 10^{-6} s bis 10^{-4} s [27] mit der Generierung einer zweiten Schockwelle. [27] [141] Danach erfolgen über einen längeren und nicht klar definierten Zeitrahmen das Wachstum und die Agglomeration des Nanomaterials. [27] Die in dieser Beziehung wichtigsten Schritte bei der Generierung von Nanopartikeln sind die Entstehung und der Kollaps der Kavitationsblase, sowie die Reaktionen, die innerhalb dieser Blase stattfinden. Mit diesem Thema beschäftigten sich unter anderem die Arbeiten von Ibrahimkuty *et al.* und Wagener *et al.*, welche sich mit der zeitaufgelösten [142] und zeit- und ortsaufgelösten [143] Untersuchung der Nanopartikelbildung in der Kavitationsblase befassten. Die Beobachtungen der Kavitationsblase beim Abtrag eines Goldplättchens in Wasser mit einem 6 ns-Laser bei 1064 nm, 200 Hz und 10 mJ mittels Kleinwinkel-Röntgenstreuung [142] konnten eine maximale Höhe der Blase von 1,15 mm definieren und die Anwesenheit einer zweiten, kleineren Kavitationsblase nach 230 μ s belegen. [142] Diese konnte durch Wagener *et al.* unter Verwendung eines ns-Lasers mit einer maximalen Blasenlänge von 1 mm nach 80 μ s und einer zweiten Blase nach 220 μ s bestätigt werden. [143] Die

Größe der Kavitationsblase und die Lebensdauer kann über Einstellung der Fluenz, also der Pulsenergie pro Fläche, beeinflusst werden. [144] [145] Je höher die Fluenz ist, desto langlebiger und größer ist die Blase. [144] [145] [146] Durch die Messung der Streuung in unterschiedlichen Höhen der Blase zum Zeitpunkt der maximalen Ausdehnung konnten von Ibrahimkuty *et al.* sowohl kleine Primärpartikel im Größenbereich von 8-10 nm verteilt über den gesamten Bereich, als auch Sekundärpartikel im Bereich von 45 nm, hauptsächlich lokalisiert im oberen Bereich der Blase, identifiziert werden. [142] Die ort- und zeitaufgelöste Untersuchung von Wagener *et al.* bestätigte die Partikelspezies und konkretisierte die Partikelverteilung mit der zusätzlichen Einbeziehung der zweiten Oszillation. [143] Dadurch entsteht die in Abbildung 13 gezeigte Verteilung während der Kavitationsblasenoszillation. [143]

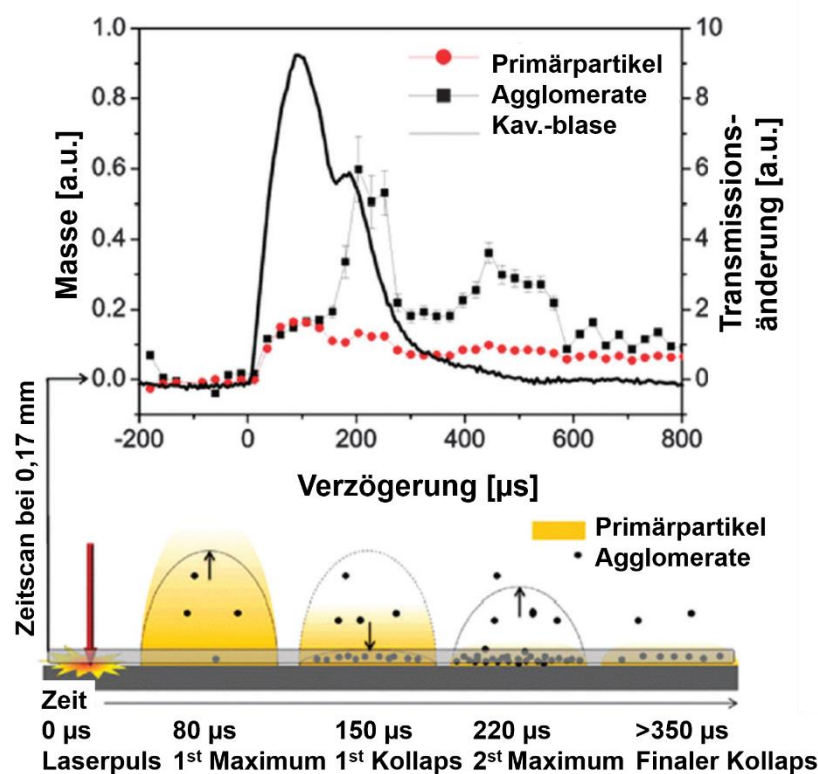


Abbildung 13: Oben: Röntgenstrahlungs-Transmission bei einer Scanhöhe von 0,17 mm. Unten: Darstellung der Partikelverteilung beim Laserabtrag zu definierten Zeitpunkten. Erstellt nach [143].⁹

Während der Lebenszeit der ersten Kavitationsblase sind Primärpartikel im gesamten Volumen verteilt. [143] Hingegen ist die Konzentration an Sekundärpartikeln zunächst gering, nimmt aber während des ersten Zusammenbruchs der Blase zu, indem die

⁹ Adapted from P. Wagener, S. Ibrahimkuty, A. Menzel, A. Plech, and S. Barcikowski. Dynamics of silver nanoparticle formation and agglomeration inside the cavitation bubble after pulsed laser ablation in liquid. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 15(9):3068-3074, 2013, with permission of the PCCP Owner Societies. <http://dx.doi.org/10.1039/c2cp42592k>.

kleinen Partikel nahe der Targetoberfläche agglomerieren. [143] Zusätzlich konnte nachgewiesen werden, dass die Primärpartikel zum Zeitpunkt der ersten maximalen Ausdehnung [142] und die Sekundärpartikel nach dem ersten Zusammenbruch außerhalb der Kavitationsblase detektiert werden können. [143] Die gesamte Lebensdauer der Blase konnte auf 350 μs festgelegt werden. [143] Auch nach einer Dauer von 400 μs konnte eine Freisetzung von Sekundärpartikeln festgestellt werden [143], was auf redeponiertes Material auf der Materialoberfläche zurückzuführen ist. [140] [143]

Die Kavitationsblase spielt nicht nur eine wichtige Rolle bei der Generierung der Nanopartikel, sondern ist auch einer der wichtigsten Faktoren, der die Produktivität des Laserabtrags beeinflussen kann. Generell sollte gelten, dass mit steigender Repetitionsrate des Lasers die Produktivität steigt, bzw. die Abtragseffizienz konstant bleibt. [138] Diese Beziehung gilt allerdings nur bis zu dem Punkt, an dem der temporale Interpulsabstand die Lebensdauer der Kavitationsblase nicht unterschreitet. [138] Tritt dieser Fall ein, so schirmt die Kavitationsblase des „ersten“ Pulses den „zweiten“ Puls teilweise oder vollständig von der Targetoberfläche ab. Daraus resultieren ein Sättigungsbereich der Produktivität und eine drastische Abnahme der Abtragseffizienz. [138] Wagener *et al.* definierten diesen Grenzwert der Repetitionsrate mit 5 kHz. [138] Unter Variation der Scangeschwindigkeit kann dieser Grenzwert sich verschieben, da dann die Kavitationsblase lateral umgangen werden kann. Diese laterale Umgehung der Kavitationsblase konnte zum Beispiel von Streubel *et al.* mit der Verwendung eines Scansystems mit Geschwindigkeiten von 500 m/s und einem 10 MHz Lasersystem genutzt werden, um eine Nanopartikelproduktivität von mehreren Gramm pro Stunde zu erzielen. [147] [148]

Hinsichtlich weiterer Prozessparameter, die die Produktivität des Abtrags beeinflussen können, stellt die Fokussierung der Laserstrahlung auf dem Target einen Aspekt dar, dem besondere Aufmerksamkeit gelten muss. Im Vergleich zur Fokussierung in Luft, müssen bei der Verwendung einer Flüssigkeit mehrere Aspekte beachtet werden. Zunächst führt die lineare Optik dazu, dass der Laserstrahl beim Eintritt in ein neues Medium gebrochen wird, wodurch der Fokus im Vergleich zu Luft verschoben wird. [149] Wird ein Laserstrahl mit ultrakurzen Pulsen und hoher Energie durch eine Flüssigkeit auf ein Target fokussiert, so kann zudem, bei ausreichend hoher Pulsleistung, auf dem Weg durch das Lösungsmittel, in Abhängigkeit vom Brechungsindex, eine Selbstfokussierung auftreten, was ebenfalls zur

Fokusverschiebung führt. [150] [151] Die nicht-linearen Effekte sollen in dieser Arbeit jedoch nicht tiefer behandelt werden. Eine Verschiebung „hinter“ den optimalen Fokus führt dazu, dass der Abtragspunkt innerhalb von Filamenten liegt und somit der Abtrag reduziert wird. [151] Eine Verschiebung „vor“ den optimalen Fokus resultiert in einer Änderung des Strahlradius auf der Targetoberfläche und somit zu einer Reduzierung der Produktivität. [151] Der Abtrag kann somit durch eine Verschiebung von wenigen Millimetern bis um das Dreifache erhöht bzw. erniedrigt werden. [151]

Die Fluenz (Pulsenergie pro Fläche) hat einen starken Einfluss auf die Produktivität. Ab einer bestimmten Fluenz auf der Flüssigkeitsoberfläche wird die Flüssigkeit verdampft, wodurch die weitere Laserstrahlung absorbiert und gestreut wird, anstatt einen Abtrag des Targets zu bewirken. [150] Diese Verdampfungsschwelle ist abhängig von der Brennweite der Fokuslinse, der verwendeten Flüssigkeit und der Flüssigkeitshöhe über dem Target. [150] Menéndez-Manjón *et al.* zeigten für verschiedene Brennweiten und Flüssigkeitshöhen die Grenzwerte für die Linsenposition, ab der eine Verdampfung des Lösungsmittel stattfinden würde (Abb. 14). [150]

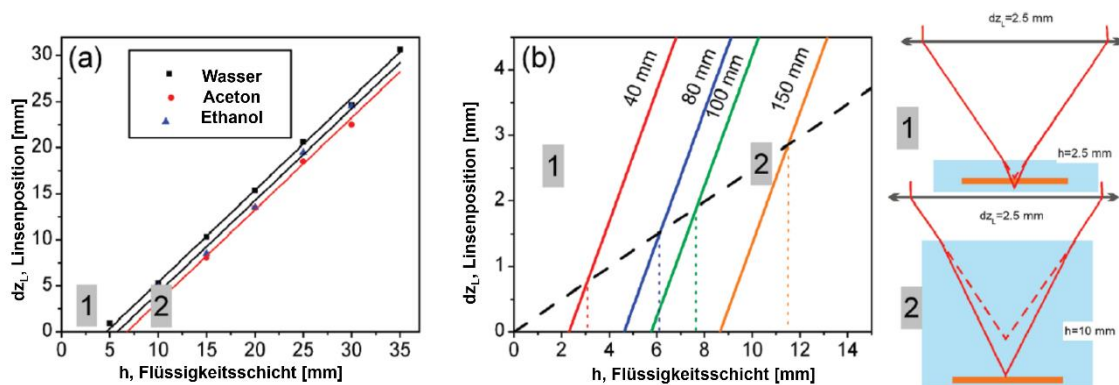


Abbildung 14: Linsenposition für die explosive Verdampfung von Wasser, Aceton und Ethanol in Abhängigkeit von der Flüssigkeitshöhe (Brennweite = 80 mm) (a). Berechnete optimale Linsenposition für verschiedene Brennweiten und Flüssigkeitsschichten, um eine explosive Verdampfung zu verhindern (b). Die farbigen, gestrichelten Linien markieren die minimale Flüssigkeitshöhe für einen maximalen Abtrag (200 μ J/Puls). Erstellt nach [150].¹⁰

So gilt zum Beispiel für eine Brennweite von 100 mm eine minimale Flüssigkeitshöhe von 6 mm, um eine Verdampfung von Wasser zu vermeiden (vgl. Abb. 14 (b)). [150] Je größer die Flüssigkeitsschicht gewählt wird, desto größer ist der Bereich zur

¹⁰ Adapted with permission from A. Menéndez-Manjón, P. Wagener, and S. Barcikowski. Transfer-matrix method for efficient ablation by pulsed laser ablation and nanoparticle generation in liquids. *Journal of Physical Chemistry C*, 115(12):5108-5114, 2011. Copyright (2011) American Chemical Society. <http://dx.doi.org/10.1021/jp109370q>.

Positionierung der Linse, ohne dass eine Verdampfung stattfindet. [150] Ein maximaler Abtrag ist hier bei einer Flüssigkeitshöhe von etwa 8 mm definiert. [150] Für kleinere Brennweiten verschiebt sich dieses Verhältnis zu kleineren Schichtdicken und dementsprechend bei größeren Brennweiten zu größeren Flüssigkeitshöhen. [150] Auch Jiang *et al.* zeigten bereits eine optimale Flüssigkeitshöhe für den maximalen Abtrag von Germanium. [152] Deutlich zu erkennen ist zudem, dass die Grenze zur Verdampfung der Flüssigkeit von der Art des Lösungsmittels abhängig ist (vgl. Abb. 14 (a)). [150] Damit müssen für jedes Lösungsmittel erneut die optimalen Konditionen für den Abtrag bestimmt werden. Die optimale Flüssigkeitsschicht oberhalb des Targets wird bei einem Versuchsaufbau, bei dem ein Quarzfenster zwischen dem Laserstrahl und der Abtragskammer eingebaut ist, zudem durch die maximale Höhe der Kavitationsblase unter Berücksichtigung der Schockwellenausdehnung begrenzt. Eine zu geringe Flüssigkeitshöhe könnte zum Bruch des Fensters führen. [153]

Weitere Parameter zur Beeinflussung der Produktivität des Laserabtrags sind die Wellenlänge des Laserstrahls, die Pulsdauer, die Pulsenergie und die Viskosität des Lösungsmittels. Der Einfluss der Wellenlänge ist gekoppelt mit der verwendeten Fluenz. [154] Bei kürzeren Wellenlängen ist für eine hohe Effizienz eine niedrige Fluenz nötig, während bei längeren Wellenlängen hohe Fluenzen genutzt werden sollten. [154] Hinsichtlich der Abtragsrate konnte von Schwenke *et al.* eine gute Ausbeute bei der Verwendung von 1030 nm erreicht werden. [155] Hinsichtlich der Pulsdauer konnte gezeigt werden, dass fs-Pulse effizienter sind als ps-Pulse. [156] Bei gleichen Fluenzen ist die Produktivität jedoch aufgrund der Verfügbarkeit höherer Repetitionsraten bei ps-Pulsen größer. [156] Erhöht man die Pulsenergie, so erhöht sich auch der Abtrag. [151] [157] Hahn *et al.* fanden jedoch heraus, dass ab einer Pulsenergie von 200 μJ keine weitere Steigerung der Produktivität in Wasser erreicht werden kann. [158] Zudem kann eine Erhöhung des Abtrags mit der Erhöhung der Fluenz erfolgen, indem das Verhältnis von Pulsenergie zum Strahldurchmesser variiert wird. [159] Je höher die Viskosität des Lösungsmittels ist, desto größer ist die Beeinflussung der Plasma- und Kavitationsblasenentwicklung und desto geringer ist die Produktivität. [139] [160]

Der Einsatz des Laserabtrag-Verfahrens bietet im Vergleich zu chemischen Syntheserouten verschiedene Vorteile. Es kann für die Generierung von Nanopartikeln auf die Verwendung von Stabilisierungsreagenzien [24] [25] und nachgeschalteten

Reinigungsschritten verzichtet werden [24], die für die chemische Synthese unverzichtbar sind, um mögliche Eduktreste oder toxische Nebenprodukte zu entfernen oder die Aktivität der Nanopartikel zu gewährleisten. [158] Dies führt neben der Verringerung von Abfallprodukten [25] auch zur Herstellung von hochreinen Nanopartikeln [24], die eine freie Oberfläche für eine mögliche Funktionalisierung bieten. [24] [25] Zudem ist es möglich über die Laserabtrags-Methode defektreiche Materialien und Suboxide herzustellen. [161] [162] Ein weiterer großer Vorteil des Laserabtrags stellt die Möglichkeit dar, die Nanopartikel aus so gut wie jedem Basismaterial, wie zum Beispiel Metallen, Halbleitern, Keramiken und Legierungen, in vielen verschiedenen Lösungsmitteln herzustellen [24] [25] [27], indem lediglich das Target ausgetauscht wird. Dadurch entfällt das Etablieren einer neuen chemischen Syntheseroute für das jeweilige Nanomaterial. Zudem sind die benötigten Basismaterialien im Vergleich zu chemischen Vorläufersubstanzen wesentlich kostengünstiger zu erwerben. [24] [25]

2.4 Laserbasierte Nanostrukturierung von Oberflächen

Neben dem Laserabtrag von Feststoffen zur Generierung von Nanopartikeln, kann der Einsatz von Lasern auch zur Oberflächenstrukturierung von Metallplättchen genutzt werden. Die Bestrahlung von Metalloberflächen mit linear polarisierten Laserpulsen [163] [164] [165] einer definierten Energie kann zur Bildung von sogenannten Rippeln [166], auch als LIPSS (engl.: laser-induced periodic surface structures) bezeichnet [163], führen, welche in zwei Strukturarten differenziert werden können. Bei der Verwendung von stark absorbierenden Materialien, wie zum Beispiel Metallen und Halbleitern, weisen die LIPSS gewöhnlich räumliche Perioden nahe der Laserwellenlänge auf und werden als LSFL (engl.: low-spatial frequency LIPSS) bezeichnet. [163] [167] [168] Sind die Perioden hingegen kleiner als die Hälfte der Laserwellenlänge, so handelt es sich um HSFL (engl.: high-spatial frequency LIPSS) [163] [168], welche meistens bei Dielektrika und Halbleitern auftreten. [169] [170] Die beschriebenen Strukturen sind in Abbildung 15 dargestellt.

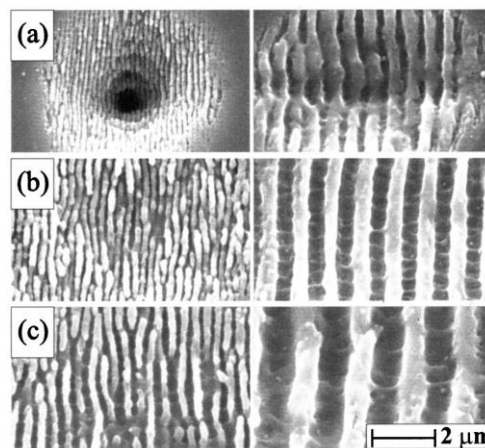


Abbildung 15: REM-Aufnahmen von HSFL (links) und LSFL (rechts) auf (100) Gallumphosphit (GaP) nach der Bestrahlung mit 800 nm (a), 1300 nm (b) und 2100 nm (c) Femtosekundenpulsen. [171]¹¹

Die Entstehung von LSFL ist bereits in mehreren Arbeiten dargestellt worden. Ursächlich für die Strukturierung der Materialoberfläche ist die Anregung von Oberflächenplasmon-Polaritonen (SPP; engl.: surface plasmon polaritons) des Feststoffes. [163] [167] [172] [173] Die Interferenz des elektrischen Feldes des Lasers mit der plasmonisch aktiven Oberfläche führt zur Absorption der Energie durch die Valenzbandelektronen, zur Schmelze und Abtrag des Materials und somit zur Bildung der periodischen Oberflächenmodifikation. [163] [174] Über die Entstehung von HSFL

¹¹ Reprinted from A. Borowiec and H. K. Haugen. Subwavelength ripple formation on the surfaces of compound semiconductors irradiated with femtosecond laser pulses. Applied Physics Letters, 82(25):4462-4464, 2003, with the permission of AIP Publishing. <http://dx.doi.org/10.1063/1.1586457>.

wird in der Literatur noch kontrovers diskutiert. [166] [170] [171] Das verwendete Material scheint dabei eine wichtige Rolle zu spielen. So konnte bei Titan (Ti) eine Oberflächenoxidation als möglicher Einflussparameter identifiziert werden. [175] [176] [177]

Frühe und aktuelle Studien unter Verwendung von Femtosekundenlasern zeigen charakteristische Eigenschaften der LIPSS auf. So konnte unter anderem von Bonse *et al.* gezeigt werden, dass LSFL erzeugt in Luft meistens senkrecht zur Polarisierung des Laserstrahls auftreten, jedoch auch nur innerhalb eines kleinen Fluenzbereiches erzeugt werden können. [167] Im Vergleich zur Bestrahlung in Luft, wurden auch vergleichbare Experimente in Wasser durchgeführt. Dabei konnte klar gezeigt werden, dass die Fluenzschwelle zur Modifikation des Materials in Wasser kleiner ist als an Luft. [163] [178] [179] Bedingt durch eine Defokussierung und Strahlfilamentierung durch den Kerr-Effekt beginnt die Beschädigung der Oberfläche nicht im Zentrum des Laserspots, sondern verteilt über die bestrahlte Fläche. [163] Die Perioden der hergestellten LSFL sind in Wasser kleiner als in Luft und parallel zur Polarisationsrichtung ausgerichtet. [163] Neben der angestrebten Strukturierung wurden von Derrien *et al.* zusätzliche heterogene Beschädigungen aufgrund von laserinduzierten Gasblasen in Wasser festgestellt. [163] Ein Vorteil der Strukturierung in Wasser ist die Vermeidung von Ablagerungen des abgetragenen Materials auf der Targetoberfläche, die den Strukturierungsprozess beeinflussen könnten. [180] Werden die LIPSS auf einem Material erzeugt, das für die Wellenlänge des Lichts transparent ist, so folgt die Periodizität der entstehenden LIPSS der Beziehung λ/n , wobei λ für die Wellenlänge der Laserstrahlung und n für den Brechungsindex des zu strukturierenden Materials steht. Ist das verwendete Material undurchsichtig für die verwendete Strahlung, so ist für n der Brechungsindex des Mediums über der Materialoberfläche (z.B. Wasser oder Luft) einzusetzen. [164] [174] [179] [181] Liegt eine Beeinflussung des Materials durch den Kerr-Effekt vor, so ergibt sich n aus $n_0 + n_2 * I$, mit n_0 dem linearen Brechungsindex, n_2 dem nicht-linearen Brechungsindex, auch Kerr-Koeffizient genannt, und I der Laserintensität. [179] Damit lassen sich bei hohen Laserintensitäten auch Strukturen, die wesentlich kleiner als die Laserwellenlänge sind, erklären. [179] So wurden die kleinsten HSFL mit einer Periode von 65-95 nm auf Titan beobachtet. [177] Die Periodizität der LIPSS wird des Weiteren von der Laserfluenz [172], der Pulsanzahl [182] und dem temporellen Interpulsabstand beeinflusst. [183]

3. Zielsetzung

Die Verwendung von Nanopartikel-Polymer-Kompositen als Ionenfreisetzungssysteme für verschiedene Bereiche der Medizin, u.a. zur unterstützten Brandwundenheilung, stellt ein vielversprechendes Forschungsfeld dar. Die Entwicklung und Charakterisierung solcher Systeme ist das Ziel dieser Arbeit. Der Laserabtrag in Flüssigkeiten dient dabei der ligandenfreien Synthese von metallischen Nanopartikeln und der *In-situ*-Einbettung dieser in die Polymermatrix. Die Verwendung von wässrigen Systemen vermeidet dabei mögliche negative biologische Effekte durch Lösungsmittel und durch laserinduzierte Nebenprodukte. Die Arbeit kann in zwei Hauptaufgabenbereiche eingeteilt werden: Zunächst soll eine nähere Betrachtung des Laserprozesses stattfinden (vgl. Abb. 16). Dabei soll zum einen die Möglichkeit der Oberflächenstrukturierung mit einem Laser betrachtet und zum anderen der Einfluss verschiedener Parameter auf den Abtrag zur Produktivitätsoptimierung untersucht werden. Der zweite Hauptaufgabenbereich soll die Synthese und Charakterisierung der Nanopartikel-Polymer-Komposite umfassen (vgl. Abb. 16). Als Polymersysteme sollen verschiedene Polymerzusammensetzungen (Copolymere, Hydrogele und Mikrogele) verwendet und die so über den Laserprozess hergestellten Komposite hinsichtlich ihrer Materialeigenschaften und ihres Ionenfreisetzungsverhaltens untersucht werden. Im Zuge dessen sollen sowohl einzelne Nanopartikelelemente, aber auch Elementkombinationen in das Polymer eingebettet und der Einfluss der Zusammensetzung auf die Freisetzungskinetik bestimmt werden. Nach der Weiterverarbeitung der Nanopartikel-Polymer-Komposite zum Anwendungssystem (gemeinsam mit Kooperationspartnern) über Elektrosponnen, Bioextrusion oder der Herstellung von Polymerplättchen, sollen diese auf ihre biologischen Eigenschaften analysiert werden. Dabei wird das Augenmerk auf die mögliche Anwendbarkeit zur Verbesserung der Brandwundenheilung, der Zelladhäsion und -proliferation zur Gefäßbildung und der Zelldifferenzierung von Stammzellen gelegt. Im Hinblick auf die Brandwundenheilung soll der Ionenhaushalt von Vollhautwunden in unterschiedlichen Heilungsstadien bestimmt werden, um beurteilen zu können, welche Ionen in welchen Konzentrationen für eine Unterstützung der Wundheilung benötigt werden. Die Ergebnisse der Ionenfreisetzung der Nanopartikel-Polymer-Komposite sollen anschließend hinsichtlich ihrer Anwendbarkeit zur unterstützenden Wundbehandlung beurteilt werden.

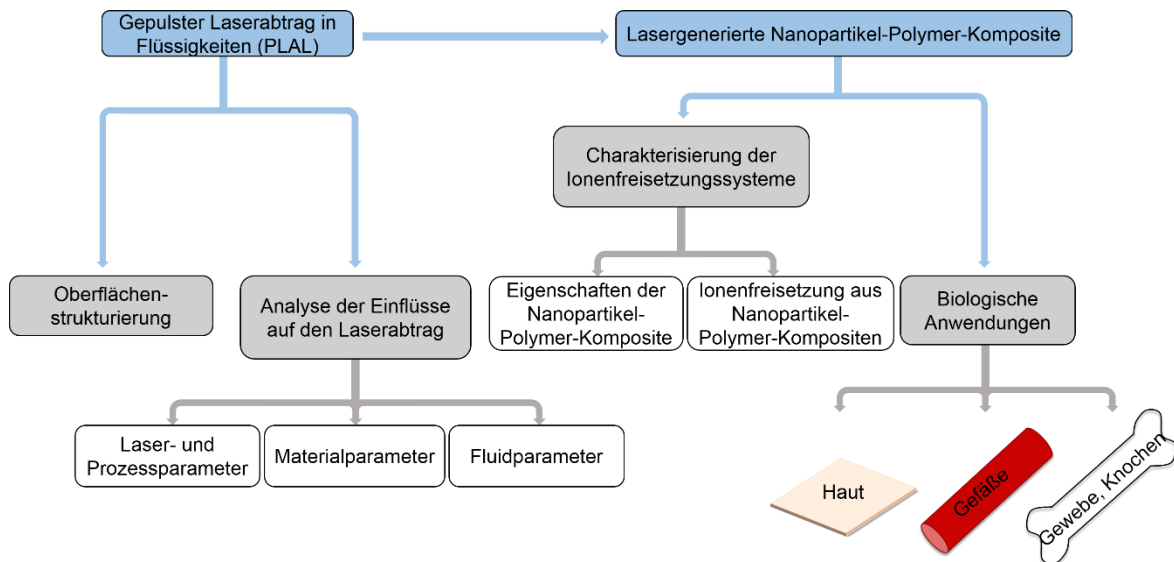


Abbildung 16: Strukturierung der in dieser Arbeit enthaltenen Arbeitsbereiche zur Verfolgung der Zielsetzung.

4. Materialien und Methoden

4.1 Materialien

4.1.1 Chemikalien

Die in dieser Arbeit verwendeten Chemikalien werden in Tabelle 2 zusammengefasst.

Tabelle 2: Verwendete Chemikalien.

Chemikalie	CAS-Nummer	Hersteller	Spezifikationen
Eisen Folie	7439-89-6	Sigma-Aldrich	Reinheit $\geq 99,99$ % 0,25 mm dick
Gold Folie	7440-57-5	Allgemeine Gold- und Silberscheideanstalt AG	Reinheit $\geq 99,99$ % 0,5 mm dick
Kupfer Folie	7440-50-8	Alfa Aesar	Reinheit $\geq 99,99$ % 0,5 mm dick
Titan Folie	7440-32-6	Sigma-Aldrich	Reinheit 99,7 % 0,25 mm dick
		MaTeck GmbH	Reinheit 99,6 % 10*10*1 mm ³
Zink-Folie	7440-66-6	Sigma-Aldrich, Goodfellow	Reinheit $\geq 99,99$ % 0,25 mm dick Härtegrad: wie gewalzt
N-Vinylcaprolactam	2235-00-9	Sigma-Aldrich	Reinheit 98 %
N,N'-Methylenbis(acrylamid)	110-26-9	Sigma-Aldrich	Reinheit 99 %
2,2'-Azobis(2-methylpropionamidin) dihydrochlorid (AMPA)	2997-92-4	Sigma-Aldrich	Reinheit 97 %
(2-Acetoacetoxy)ethyl methacrylat (AAEM)	21282-97-3	Sigma-Aldrich	Reinheit 95 %
Poly(ethylenglykol) methacrylat (PEG-MA)	25736-86-1	Sigma-Aldrich	mittleres Molekulargewicht M _n 500 g/mol
Poly(ethylenglykol) diacrylat (PEG-DA)	26570-48-9	Sigma-Aldrich	mittleres Molekulargewicht M _n 700 g/mol
Ethylenglykol	107-21-1	Roth	Reinheit ≥ 99 %
		Sigma-Aldrich	Reinheit 99,8 % wasserfrei
Diethylenglykol	111-46-6	Sigma-Aldrich	Reinheit $\geq 99,0$ % wasserfrei
		Merck	
Aceton	67-64-1	AppliChem	ultrapure wasserfrei
Methanol	67-56-1	VWR	Reinheit 99,8 %
Tetrahydrofuran	109-99-9	Acros	Reinheit 99,6 %

Chemikalie	CAS-Nummer	Hersteller	Spezifikationen
Wasserstoffperoxid	7722-84-1	Merck Millipore	30 %ig, Suprapur®
Salpetersäure	7697-37-2	Merck Millipore	65 %ig, Suprapur®
Argon	7440-37-1		
Stickstoff	7727-37-9		
Thioninacetat	78338-22-4	Fluka	
Oxel-3 Elektrolyt für Sauerstoffsonde		PCE Instruments	
Piperazin-N,N'-bis(2-ethansulfonsäure) (PIPES)		Sigma-Aldrich	pH 7,4
Certipur® Multielementstandard		Merck	Konzentration: 1 g/l 23 Elemente
Kupferstandard		Merck	Konzentration: 1 g/l
Thuliumstandard		Merck	Konzentration: 1 g/l
Yttriumstandard		Merck	Konzentration: 1 g/l
Zinkstandard		Merck	Konzentration: 1 g/l
Austerngewebe		National Institute of Standards & Technology (NIST), Gaithersburg (USA)	Standard-Referenzmaterial® (SRM) 1566b
marines Fisch-Proteinhomogenat (DORM-3)		National Research Council (NRC) Canada	Zertifiziertes Referenzmaterial
Extern			
Natriumalginat	9005-38-3	Sigma	Gewonnen aus der Braunalge 61 % β -D-Mannuronsäure und 39 % α -L-Guluronsäure
Agarose	9012-36-6	Biozym Scientific	Biozym Sieve 3:1 Agarose Schmelztemperatur ≤ 90 °C
Calciumchlorid dihydrat	10035-04-8	Sigma-Aldrich	Reinheit ≥ 99 %
Kulturmedium für Endothelzellen		Lonza	EBM-2 Basal Medium CC-3156 mit Wachstumsfaktoren CC-4176; verwendet vom Uniklinikum Aachen

Chemikalie	CAS-Nummer	Hersteller	Spezifikationen
PCL	24980-41-4	Sigma-Aldrich	M _w =45000 g/mol; verwendet von der RWTH Aachen
Kollagenase CLS 1		Merck Millipore	C1-28; verwendet von der MHH
Dispase II		Roche, Grenzach-Whylen, Deutschland	verwendet von der MHH
Keratinocyten-Wachstums- serum 2		PromoCell	Katalognummer C-20111; verwendet von der MHH
DMEM-F12 Flüssigmedium		Biochrom AG	Katalognummer FG 4815; verwendet von der MHH
Fetales Kälberserum		Merck Millipore	Katalognummer S 0615; verwendet von der MHH
Penicillin/Streptomycin		Merck Millipore	Katalognummer A 2212; verwendet von der MHH
L-Ascorbinsäure-2-phosphat	113170-55-1	Sigma-Aldrich	verwendet von der MHH
phosphatgepufferte Salzlösung		Life Technologies	18915-14; verwendet von der MHH
CytoTox-One™		Promega	Katalognummer G7890; verwendet von der MHH
CellTiter-Blue®		Promega	Katalognummer G8082; verwendet von der MHH
Calcein-AM		Life Technologies	Katalognummer C3100MP; verwendet von der MHH

4.1.2 Geräte

Die verwendeten Geräte werden im Folgenden in interne (an der Universität Duisburg-Essen lokalisierte) und externe (von Kooperationspartnern verwendete) Geräte unterteilt. Zunächst erfolgt eine Auflistung der internen Geräte.

Tabelle 3: Verwendete Geräte an der Universität Duisburg-Essen.

Gerät	Modell	Hersteller	Verwendete Einstellungen und Spezifikationen
Konfokal Mikroskop	TCS SP8 Software: LAS AF 3	Leica	Objektiv: HC PL APO CS2 (Öl) Weißlichtlaser (WLL), 1,5 mW, 470-670 nm Detektor: PMT
Lyophilisator	ALPHA 1-4 LD _{plus}	Christ	Eiskondensatorleistung: max.4 kg/24 h Eiskondensatortemperatur: ca. -55 °C
Mikrowellen-Druckaufschluss	Mars 5	CEM	Druck: ≤ 1500 psi Temperatur: ≤ 300 °C
	Aufschlussgefäße XP-1500 plus		Fluoropolymer
ICP-QMS	ELAN 6000	Perkin-Elmer	Detektionsbereich: 1-270 u Auflösung: 0,3-3,0 u
	Autosampler AS 90		
Zentrifugenröhrchen		Falcon	Polystyrol, 15 ml
		Sarstedt	Polyethylen, 15 ml
Rasterelektronenmikroskop	Quanta 400 FEG	FEI Company	Beschleunigungsspannung 200 V-30 kV
	JSM-7500F	JEOL	Beschleunigungsspannung 0,1-30 kV mit Bruker Quantax 200 für EDX
Röntgen-diffraktometer (XRD)	D8 Advance	Bruker	Schrittweite: 0,0001°
	X'Pert Pro	PANalytical	Aufbau: grazing incidence
UV/VIS-Spektrophotometer	Evolution 201 Software: Insight 3.0.0.109	Thermo Scientific	Xenon Lampe Messbereich: 190-1100 nm Genauigkeit: ± 0,8 nm
	High Precision Cell	Helma Analytics	Quartz SUPRASIL® Volumen: 1,5 ml Schichtdicke: 10 mm

Gerät	Modell	Hersteller	Verwendete Einstellungen und Spezifikationen
Zeta-Potential und DLS	Zetasizer Nano ZS Software: Zetasizer 7.10	Malvern	<u>Zeta-Potential:</u> Messbereich: 3,8 nm – 100 µm Genauigkeit: ± 0,12 µm*cm/V*s <u>DLS:</u> Messbereich: 0,3 nm – 10 µm Genauigkeit: ± 2 %
	380ZLS	NICOMP™	
DLS	StabiSizer® PMX200CS	Particle Metrix	Messbereich: 0,8 nm-6,5 µm
Refraktometer	DR201-95	A. Krüss Optronic GmbH	Messbereich: 1,3330-1,5318 nD Genauigkeit: ± 0,0003 nD Auflösung: 0,0001 nD
	DR101-60		Messbereich: 1,3330-1,4419 nD Genauigkeit: ± 0,0005 nD Auflösung: 0,0001 nD
pH und Sauerstoffdetektor	PHD 1	PCE Instruments	<u>pH:</u> Messbereich: 0-14 pH Genauigkeit: ± 0,02 pH Auflösung: 0,01 pH <u>Sauerstoff:</u> Messbereich: 0-20 mg/l (im Wasser) Genauigkeit: ± 0,4 mg/l Auflösung: 0,1 mg/l
Laser Leistung/Energie-Messer	FieldMaxII-TOP	Coherent	Genauigkeit: ± 1 %, ± 1 Hz
	Messkopf: PM30		Leistungsbereich: 10 mW-30 W
Transmissions-elektronen-mikroskop	CM 12	Philips	Beschleunigungsspannung 20-120 kV Druck: 10 ⁻⁶ mbar
	EM 910	Zeiss	Strahlenergie: 120 keV
Waage	300SCS	Precisa	
	XR 205SM-DR		Lesbarkeit: 0,01 mg
	40SM-200A		Genauigkeit: 0,1 mg
	Libror AEG-220	Shimadzu	Genauigkeit: 0,001 g
Entgaser	Azura DG 2.1S	Knauer	Fluoropolymer-Membran Max. Flussrate: 2,0 ml/min

Gerät	Modell	Hersteller	Verwendete Einstellungen und Spezifikationen
Laser	Atlantic1064/532	Ekspla	Pikosekundenlaser Wellenlänge: 1064 nm Pulsdauer: <10 ps Strahldurchmesser: $2 \pm 0,5$ mm Mittlere Leistung: > 16 W Pulsenergie (bei 100 kHz): > 160 μ J M^2 : <1,5
	Powerline 20E	Rofin	Nanosekundenlaser Wellenlänge: 1064 nm Pulsdauer: 10 ns Stromstärke: 35 A Repetitionsrate: 5 Hz
Scanner	Scancube® 10 Software: Laserdesk 1.0.3.31189	Scanlab	Scangeschwindigkeit: 6,0 m/s
Fokussierlinse	S4LFT0101/126	Sill optics	F-Theta Linse Effektiver Fokusabstand: 100,1 mm Arbeitsabstand: 112,0 mm
	S4LFT0063/126	Sill optics	F-Theta Linse Effektiver Fokusabstand: 63 mm Arbeitsabstand: 74,5 mm
Netzgerät	PS-1302 D	Voltcraft	Leistung: 60 W
Pulsgenerator	TGP110	Aim & Thurlby Thandar Instruments	Frequenzbereich: 0,1 Hz- 10 MHz
Pumpensystem	Reglo-CPF Digital	Ismatec	Geschwindigkeit: 40-1800 rpm
	NE300	ProSense	Pumpgeschwindigkeit: max. 1257 ml/h
Total Organic Carbon (TOC)	TOC-V _{CPN} Autosampler ASI-V Software: TOC- Control V	Shimadzu	Messbereich: TC 0-25000 mg/l
Thermogravimetrie mit Massen- spektroskopie	STA 449 F1 Jupiter® Software: Proteus®	Netzsch	Temperaturbereich: -150-2400 °C TG-Auflösung: 0,025 μ g
Zentrifuge	Universal 16 Universal 32R	Hettich	Drehzahl: max. 4000 rpm
Ultraschallbad	Sonorex RK 31		
	Sonorex RK 31	Bandelin	Betriebsfrequenz: 35 kHz

Gerät	Modell	Hersteller	Verwendete Einstellungen und Spezifikationen
Inkubator	Unitron	Infors HT	Temperaturprecision: $\pm 0,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ Drehzahl: 20-400 rpm
	Inkubator 1000	Heidolph	
Trockenschrank	U 40	Memmert	Temperatur: bis $300\text{ }^{\circ}\text{C}$
Infrarot-Spektroskopie	3100 FT-IR Excalibur Software: Resolutions Pro	Varian	
Röntgenphotoelektronen-spektrometer (XPS)	ULVAC-PHI VersaProbe II	Physical Electronics	Al K α Linie Pass-Energie: 23,5 eV Ar-Ionen Sputtereinheit

Verwendete Geräte, die hier nicht aufgeführt sind, werden als Standard-Labora-ausrüstung angesehen.

Zur Datenauswertung wurden folgende Computerprogramme verwendet:

- 1) OriginPro, Version 2015G
- 2) IMARIS, Version 7.7.2
- 3) ImageJ, Version 1.45s
- 4) MAUD

Verwendete Geräte für Analysen, die von Kooperationspartnern durchgeführt wurden, sind in nachfolgender Tabelle aufgeführt.

Tabelle 4: Verwendete Geräte von Kooperationspartnern.

Gerät	Modell	Hersteller	Verwendete Einstellungen und Spezifikationen	Standort
Mikroskop	Eclipse L200, Software: NIS-Elements	Nikon	Hellfeldmodus CCD Kamera 5x und 50x Mikroskopobjektiv	Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (BAM), Berlin
Mikroskop	DMI6000B	Leica Microsystems		Uniklinikum Aachen
Fluoreszenz-Mikroskop	BioZero	Keyence		MHH
FESEM	S-3000N	Hitachi	Beschleunigungsspannung 2 kV	RWTH Aachen

Gerät	Modell	Hersteller	Verwendete Einstellungen und Spezifikationen	Standort
TEM, REM+ EDX	SU9000	Hitachi-High Technologies America, Oxford Instruments		RWTH Aachen
TEM	UBRA120	Zeiss	Beschleunigungs- spannung 80 kV, Vakuum $10^{-6} - 10^{-7}$ mbar	RWTH Aachen
TGA	Mess- einheit: TG 209 C Kontroll- einheit: TASC 414/4	Netzsch	Genauigkeit: 0,001 mg	RWTH Aachen
Digitalkamera	Canon EOS 7D	Canon, Tokio, Japan		Uniklinikum Aachen
Universalprüf- maschine	Z 2.5	Zwick, Ulm, Deutschland		Uniklinikum Aachen

4.2 Methoden

4.2.1 Kolloidanalyse

Zur Analyse der optischen Eigenschaften der hergestellten Nanopartikel wurde die UV/VIS-Spektroskopie verwendet. Aus den erhaltenen Spektren lässt sich über die Anwendung des sogenannten Tauc-Plots die Bandlücke des Stoffes bestimmen. [184] Die Bandlücke eines Festkörpers bestimmt seine optischen und elektrischen Eigenschaften und ist definiert als der Energieunterschied zwischen dem oberen, elektronenbesetzten Valenzband und dem unteren, unbesetzten Leitungsband. [185] [186] Nach Tauc gilt: [184] [in 187] [in 188]

$$\alpha h\nu = A * (h\nu - E_g)^n \quad \text{Gl. 8}$$

In der Formel ist h als Planck-Konstante, α als Absorptionskoeffizient, E_g als Bandlücke, A als Proportionalitätsfaktor und ν als Vibrationsfrequenz definiert. [184] [in 187] [in 188] Die Variable n wird differenziert für die Elektronenübergänge definiert. So ist n für direkte, erlaubte Übergänge ein Wert von $1/2$, für direkte, verbotene Übergänge von $3/2$, für indirekte, erlaubte Übergänge 2 und für indirekte, verbotene Übergänge 3 . [184] [in 187] [in 188]

Zur Bestimmung der Bandlücke wird eine Auftragung von $(\alpha h\nu)^{1/2}$ bzw. $(\alpha h\nu)^2$ gegen $h\nu$ angefertigt und eine lineare Regression durch die Datenpunkte gelegt. Der Schnittpunkt dieser Regression mit der x-Achse stellt die Bandlücke der Probe dar. [184] [in 187] [in 188]

4.2.2 Kompositanalyse

Zur Strukturaufklärung der hergestellten Nanopartikel wurde unter anderem die Methode der Röntgenbeugung (engl.: X-ray diffraction (XRD)) verwendet. Aus der Beugung von Röntgenstrahlung am Kristallgitter des untersuchten Stoffes wird ein Diffraktogramm erhalten, aus dem verschiedene Informationen über die Probe erhalten werden können. Die Lage der Reflexe im Diffraktogramm ist für jeden Stoff charakteristisch und ermöglicht so die Identifizierung der Probenzusammensetzung. Dazu werden die Reflexpositionen mit den in einer Datenbank (hier verwendet: www.icsd.fiz-karlsruhe.de) gespeicherten Diffraktogrammen verglichen.

Aus der Form der Reflexe lässt sich zudem über die Scherrer-Gleichung die Kristallgröße der Probe berechnen. [189] [190]

$$G = \frac{k \cdot \lambda}{\beta \cdot \cos \theta} \quad \text{Gl. 9}$$

Mit: [189]

$$\beta = \sqrt{(\beta_{\text{Probe}}^2 - \beta_{\text{Gerätereferenz}}^2)} \quad \text{Gl. 10}$$

Dabei ist G die Kristallgröße des Pulvers, λ die Wellenlänge der Röntgenstrahlung (hier verwendet: Cu K_{α} -Strahlung (1,5411 Å)), β die Halbwertsbreite in Bogenmaß, θ der Beugungswinkel in Bogenmaß und k eine kristallform-abhängige Konstante [189] [190], die in der Regel mit einem Wert von 0,9 für sphärische Partikel in guter Näherung verwendet wird. [189] Es ist anzumerken, dass diese Gleichung nur für eine Kristallgröße bis zu 200 nm anwendbar ist. [191]

4.2.3 Bildgebende Analytik

Ein Instrument der bildgebenden Analytik stellt die Konfokalmikroskopie dar. Dabei wird eine Probe mit einem Laserstrahl beleuchtet und die reflektierte oder durch einen Fluoreszenzfarbstoff abgegebene Strahlung aufgezeichnet und dadurch ein Bild generiert. Diese Methode wird in dieser Arbeit zur Sichtbarmachung der Nanopartikel in einem Komposit und dadurch zur qualitativen Beurteilung der Nanopartikelverteilung in einer dreidimensionalen Matrix genutzt. Durch die Bestrahlung von Nanopartikeln mit Licht einer bestimmten Wellenlänge wird die Plasmonenresonanz oder Lumineszenz angeregt, die es möglich macht Nanopartikelagglomerate, bzw. –aggregate von mindestens 60 nm bildlich darzustellen. [192] [193] Eine Möglichkeit der Darstellung ist die Übersichtsbetrachtung der Nanopartikel in verschiedenen Ebenen der Matrix mit der Option der Vergrößerung ausgewählter Partikelansammlungen. Ein Vorteil liegt darin, dass eine dreidimensionale Darstellung der Nanopartikelverteilung angefertigt werden kann, indem ein Scan mit beliebiger Schrittweite durch alle Ebenen der 3D-Struktur durchgeführt wird und die erhaltenen Bilder jeder Ebene zu einer 3D-Darstellung zusammengeführt werden. [193]

Mittels dieser Methode wurde in dieser Arbeit die Verteilung der Nanopartikel in Alginatröhren und Poly(ethylenglykol) diacrylat (PEG-DA)-Plättchen analysiert. Im Fall der Alginatröhren wurde zusätzlich ein Farbstoff für die Matrix verwendet. Die dazu

verwendeten Bestrahlungs- und Detektionswellenlängen sind in Tabelle 5 zusammengefasst.

Tabelle 5: Bestrahlungs- und Detektionswellenlängen bei der Konfokalmikroskopie von Nanopartikel-beladenen und -unbeladenen Alginatröhren und PEG-DA-Plättchen.

Probe	Bestrahlungs- wellenlänge	Detektionswellenlänge	Referenz
Unbeladene Matrix	532 nm (Referenz Nanopartikel) 594 nm (Referenz Farbstoff)	534 nm – 590 nm 600 nm – 650 nm DIC (differential interference contrast)	
Matrix, beladen mit Gold- Nanopartikeln	532 nm (Nanopartikel) 594 nm (Farbstoff)	534 nm – 590 nm (Nanopartikel) 600 nm – 650 nm (Farbstoff) DIC (differential interference contrast)	[194] [192]
Matrix, beladen mit Eisen- Nanopartikeln	470 nm, 532 nm (Nanopartikel) 594 nm (Farbstoff)	472 nm – 528 nm, 533 nm – 590 nm (Nanopartikel) 600 nm – 765 nm (Farbstoff) DIC (differential interference contrast)	[195]

5. Experimentelle Durchführung und Methodenentwicklung

5.1 Laserabtrag in Flüssigkeiten

Ablationskammern

Für die Durchführung der in dieser Arbeit angefertigten Laserablations-Experimente wurden verschiedene Arten von Abtragskammern verwendet. Um eine Übersicht zu haben, zeigt Tabelle 6 eine Zuordnung der durchgeführten Experimente zur jeweiligen Abtragskammer.

Tabelle 6: Zuordnung der verwendeten Abtragskammer zum durchgeführten Experiment mit Kapitelangabe.

Abtragskammer	Experiment	Kapitel
Batch-Kammer	Laserinduzierte periodische Oberflächenstrukturierung	6.1
	Laserabtrag in Wasser mit unterschiedlichen Sauerstoffkonzentrationen	6.3.2
	Variation der Laser- und Prozessparameter	6.2.1
	Variation der Materialparameter	6.2.2
	Variation der Fluidparameter - Medientemperatur	6.2.3
	Variation der Fluidparameter – Fed-Batch Betrieb	6.2.3
	Herstellung von Polymersystemen (PVCL/AAEM, PVCL/PEG-MA, Alginat, PEG-DA)	6.4, 6.5, 6.6
Durchflussskammer	Variation der Fluidparameter	6.2.3
	Herstellung von Polymersystemen (PVCL)	6.4
temperierbare Durchflussskammer	Variation der Schangeometrien	6.2.1
	Variation der Fluidparameter	6.2.3

Sofern nicht anders angegeben, wurde eine sogenannte Batch-Kammer, wie in Abbildung 17 dargestellt, genutzt. Diese Version der Abtragskammer wurde mit einem Fassungsvermögen von 20 ml oder 30 ml verwendet und bestand entweder aus Aluminium oder Teflon.

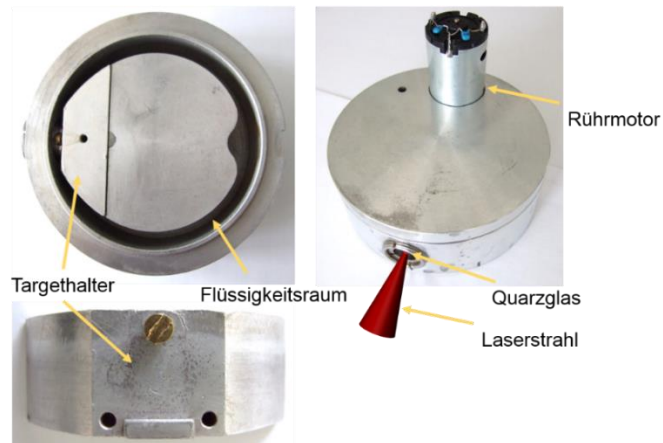


Abbildung 17: Aufbau der verwendeten Batch-Kammer.

Durch den Rührmotor wird die eingefüllte Flüssigkeit kontinuierlich durchmischt und somit auch die hergestellten Nanopartikel von der Targetoberfläche abtransportiert. Über Bohrungen im Deckel (Abbildung 17 zeigt nur eine Bohrung, weitere sind möglich) kann ein Thermometer zur Temperaturkontrolle eingeführt werden oder es dient der Zugabe des Polymerisationsinitiators über eine Spritze.

Neben dieser Batch-Kammer wurde alternativ eine Durchflussskammer verwendet (vgl. Abb. 18).

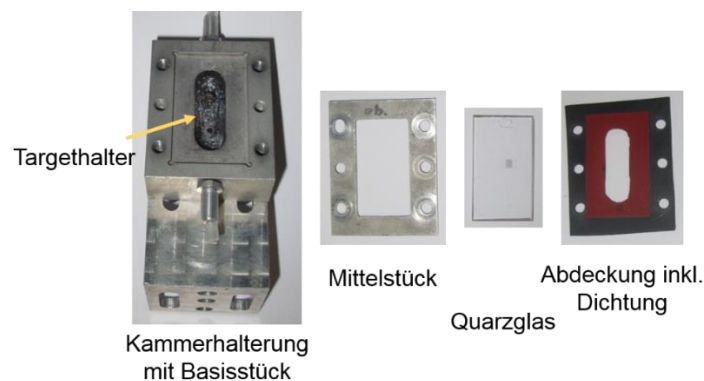


Abbildung 18: Aufbau der verwendeten Durchflussskammer.

Durch diese Kammer wird kontinuierlich frisches Medium gepumpt, wodurch eine Beeinflussung des Abtrags durch bereits vorhandene Nanopartikel reduziert wird.

Die verwendeten Monomerlösungen sollen während des Abtrags polymerisiert werden, wozu unter anderem eine Temperatur von 80°C benötigt wird. Um diese Temperatur in der Abtragskammer gewährleisten zu können, wurde eine Durchflussskammer verwendet, die durch weitere Anschlüsse mit entsprechend temperiertem Wasser durchflossen und somit aufgeheizt werden kann (vgl. Abb. 19).

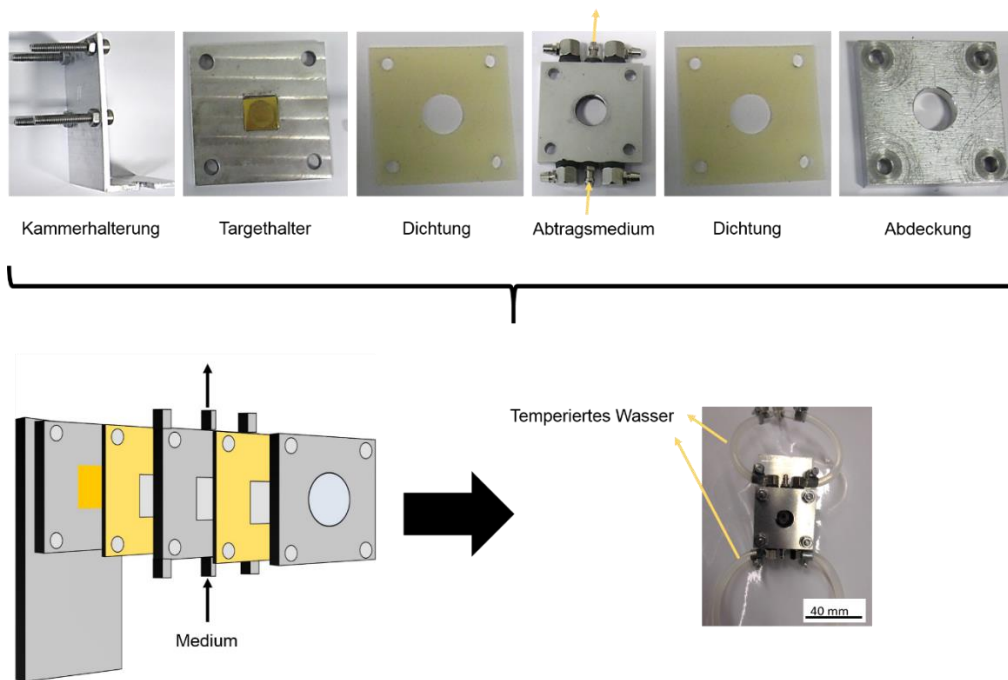


Abbildung 19: Aufbau der temperierbaren Durchflusskammer.

Der allgemeine Aufbau für den Laserabtrag auf dem optischen Tisch ist in Abbildung 20 dargestellt. Für die dort gezeigte Batch-Kammer kann alternativ eine Durchflusskammer stehen. Für eine Temperierung der Batch-Kammer wurde unter diese eine Heizplatte gestellt.

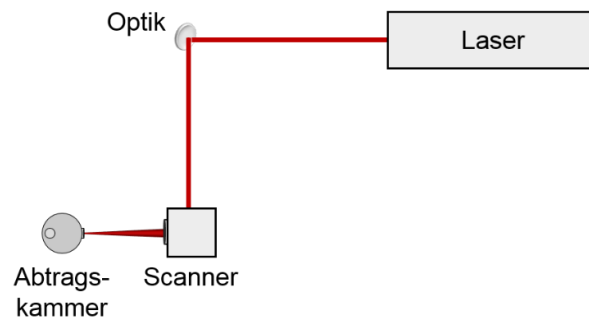


Abbildung 20: Aufbau des Laserabtrags.

Falls nicht abweichend im jeweiligen Ergebniskapitel erwähnt, wurden die in Tabelle 7 aufgelisteten Parameter mit dem Pikosekundenlaser verwendet.

Tabelle 7: Verwendete Parameter beim Laserabtrag mit dem Pikosekundenlaser.

Repetitionsrate	100 kHz
Leistung (nach der Scannereinheit)	10,14 W
Spiraldurchmesser	6 mm
Flüssigkeitsschicht der Kammer	3 mm
Brennweite der Fokulinse	100,1 mm

Sofern ein Nanosekundenlaser verwendet wurde, so ist dieses am jeweiligen Experiment vermerkt.

Bei dem Abtrag in reinem Lösungsmittel wurde dieses lediglich in die Kammer eingefüllt, das jeweilige Target befestigt, die Kammer verschlossen und der Abtrag gestartet.

Sofern Analysen mittels Transmissionselektronenmikroskopie erfolgten, so werden ausgewählte, representative Bilder im Ergebnisteil dargestellt. Weitere Bilder sind im Anhang beigelegt.

Polymersysteme

Die für das jeweilige Polymersystem verwendete Abtragskammer ist in Tabelle 8 zusammengefasst.

Tabelle 8: Verwendete Abtragskammer für das jeweilige Polymersystem.

Polymersystem	Ablationskammer
PVCL/AAEM	Batch-Kammer, Aluminium, 20 ml
PVCL/PEG-MA	Batch-Kammer, Aluminium, 20 ml
Alginat	Batch-Kammer, Teflon, 30 ml
PEG-DA	Batch-Kammer, Aluminium, 20 ml

Mikrogel (PVCL/AAEM)

Um Nanopartikel *in situ* in ein Mikrogel einzuschließen, wurde eine wässrige Monomerlösung verwendet. Diese bestand aus *N*-Vinylcaprolactam (VCL) (0,1 mol/l), 2-(Methacryloyloxy)ethyl-acetoacetat (AAEM) (5 mol% in Bezug auf VCL) gemischt mit dem Vernetzer *N,N'*-Methylenbis(acrylamid) (BIS) (3 mol% in Bezug auf VCL). Die Lösung wurde in eine Batch-Kammer aus Aluminium gefüllt, welche sich auf einer Heizplatte, die die Kammer samt Flüssigkeit auf eine Temperatur von 80 °C aufheizte, befand. Nach Erreichen dieser Temperatur wurde der Laserabtrag gestartet und der Polymerisationsinitiator 2,2'-Azobis (2-methylpropionamidin) dihydrochlorid (AMPA) (5 g/l) hinzugegeben. Die Lösungen wurden insgesamt eine Stunde bei einer Temperatur von 80 °C temperiert, um eine vollständige Polymerisation zu gewährleisten.

Copolymer (PVCL/PEG-MA)

Alternativ zu einem Mikrogel wurde eine weitere Copolymer-Zusammensetzung gewählt. Die Monomerlösung setzte sich dabei aus *N*-Vinylcaprolactam (VCL) (0,025 mol/l), Poly(ethylenglykol) methacrylat (PEG-MA) (sofern nicht anders angegeben 5 mol% in Bezug auf VCL) und dem Vernetzer *N,N'*-Methylenbis(acrylamid) (BIS) (3 mol% in Bezug auf VCL) zusammen. Auch diese Lösung wurde auf 80 °C erhitzt, mit dem Initiator gemischt und für insgesamt 2 h bei 80 °C auspolymerisiert. Mit dieser Zusammensetzung wurden ebenfalls Proben hergestellt, die mehr als ein Element beinhalteten. Dazu wurde zunächst ein Element abgetragen, danach das Targetelement ausgetauscht und das zweite Element in der gleichen Lösung zusätzlich abgetragen.

Die beiden Copolymer-Versionen wurden jeweils für weitere Experimente gefriergetrocknet, um eine mögliche Veränderung des Materials, durch zum Beispiel Ionenfreisetzungen, bis zur Testung zu vermeiden.

Hydrogel (Alginat)

Für die Hydrogel-Synthese wurden zwei verschiedene Polymere gewählt. Zunächst wurde eine 3 %ige, wässrige Alginatlösung 1:1 (v:v) mit MilliQ-Wasser auf 1,5 % verdünnt. Diese Lösung wurde in eine Teflon-Batch-Kammer gefüllt und der Abtrag bei Raumtemperatur durchgeführt.

Hydrogel (PEG-DA)

Das zweite Hydrogel bestand aus einer wässrigen Poly(ethylenglykol) diacrylat (PEG-DA) Lösung. Zunächst wurde reine PEG-DA-Lösung verwendet, welche im späteren Verlauf verdünnt und durch PEG-MA als zusätzliches Stabilisierungsmittel ergänzt wurde. Dieser Schritt war notwendig, da in reiner PEG-DA-Lösung durch die sehr hohe Viskosität der Abtrag stark minimiert wurde. Eine Konzentration mit einer Viskosität, die den Abtrag nicht bzw. nur gering beeinflusste (0,32 mol/l) reichte zur Stabilisierung der Nanopartikel nicht aus, sodass das Polymer PEG-MA (0,18 mol/l) hinzugegeben wurde, was die Viskosität nicht weiter beeinflusste, die Partikel aber stabilisierte. Die verwendete Lösung wurde, wie zuvor beschrieben, in einer Batch-Kammer bei Raumtemperatur zum Abtrag genutzt.

Die Hydrogele wurden für weitere Testungen eingefroren, um Veränderungen des Materials zu vermeiden.

Die jeweilige ablatierte Masse wurde gravimetrisch durch das Wiegen des Targets vor und nach dem Abtrag bestimmt.

5.2 Materialverarbeitung

Elektrospinnen

Die gefriergetrockneten Nanopartikel-Polymer-Komposite wurden am DWI – Leibniz-Institut für Interaktive Materialien der RWTH Aachen von M.Sc. Catalina Molano und Dr. Philipp Wilke unter der Leitung von Prof. Dr. Andrij Pich zu Fasern mittels Elektrospinnen weiterverarbeitet. Die Anlage besteht aus einer Spritze mit Metallkanüle und einem Kollektor aus Aluminium. Beide Bauteile fungieren als Elektroden, angeschlossen an einen Eltex KNH34 Generator, wodurch mit einer Spannung von 20-24 kV ein elektrisches Feld generiert wird. Für die Herstellung der Fasern wurde Poly- ϵ -Caprolacton (PCL) als Basisfasermaterial mit einem Anteil von 12 wt% in einer Toluol/Methanol-Mischung im Verhältnis von 1:1 (v/v) gelöst. Die Zugabe des Nanopartikel-beladenen Polymers erfolgte im PCL:Polymer-Verhältnis von 7:3 (w/w). Diese Dispersion wurde durch die Kanüle mit einer Geschwindigkeit von 0,2-0,5 ml/h auf den Kollektor gesponnen.

Extrusion

Die Extrusion von Alginaten wurde von M.Sc. Andreas Blaeser¹² durchgeführt.

Die Nanopartikel-Alginatlösungen wurden für die Bioextrusion für 20 min bei 121 °C autoklaviert. Das verwendete Extrusionssystem wurde bereits von Blaeser *et al.* beschrieben [196] und ist in Abbildung 21 dargestellt. „Die Nanopartikel-beladene oder -unbeladene Alginatlösung wurde durch den äußeren Ring der Düse zu einem Strang extrudiert. In der Mitte dieses Strangs wurde parallel eine Lösung aus Perfluorocarbon (PFC) gespritzt, die als Stützflüssigkeit diente und so bei der Bildung der stabilen, dünnwandigen Röhren half. Die Röhre wurde in ein Bad aus Calciumchlorid (CaCl_2) (50 mg/ml) extrudiert, in welchem das Alginat sofort gelierte.“ [197]¹³

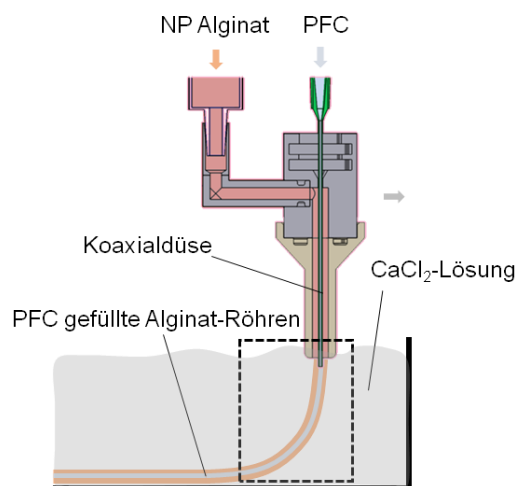


Abbildung 21: Experimentelles Schema der Alginatextrusion. Das Schema wurde erstellt und zur Verfügung gestellt von M.Sc. Andreas Blaeser¹⁴. [197]¹³

¹² Universitätsklinikum RWTH Aachen, Zahnärztliche Werkstoffkunde und Biomaterialforschung, Leitung: Univ.-Prof. Dr.-Ing. Horst Fischer

¹³ Nano Research, Laser-based in situ embedding of metal nanoparticles into bioextruded alginate hydrogel tubes enhances human endothelial cell adhesion, 9(11), 2016, 3407-3427, A. Blaeser, N. Million, D. F. Duarte Campos, L. Gamrad, M. Köpf, C. Rehbock, M. Nachev, B. Sures, S. Barcikowski, and H. Fischer, Copyright Tsinghua University Press and Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2016. With permission of Springer. The final publication is available at Springer Nature via <http://dx.doi.org/10.1007/s12274-016-1218-3>.

¹⁴ Universitätsklinikum RWTH Aachen, Zahnärztliche Werkstoffkunde und Biomaterialforschung, Leitung: Univ.-Prof. Dr.-Ing. Horst Fischer

5.3 Ionenfreisetzung

Fasern

Zur Testung der Ionenfreisetzung aus Fasern wurden PVCL/PEG-MA-Copolymere mit unterschiedlichen Nanopartikelanteilen hergestellt und zu Fasern weiterverarbeitet. Die hergestellten Elementvariationen sind in Tabelle 9 zusammengefasst.

Tabelle 9: Probenmatrix zur Ionenfreisetzung aus Fasern, versponnen mit Nanopartikel-beladenen Copolymeren.

Elemente	Probenbezeichnung	Massenanteil Nanopartikel im Copolymer [wt%]	Massenanteil Nanopartikel auf der Faser [wt%]
Zink	Zink1	1,94	0,58
	Zink2	7,46	2,24
	Zink3	11,58	3,48
Eisen	Eisen1	0,25	0,08
	Eisen2	0,60	0,18
Kupfer	Kupfer1	2,02	0,61
	Kupfer2	2,08	0,62
	Kupfer3	1,31	0,39
Kupfer, Zink	KupferZink1	1,37 Cu 4,73 Zn	0,41 Cu 1,42 Zn
	KupferZink2	3,41 Cu 3,96 Zn	1,02 Cu 1,19 Zn
	KupferZink3	2,37 Cu 1,41 Zn	0,71 Cu 0,42 Zn
Eisen, Zink	EisenZink1	0,24 Fe 3,34 Zn	0,07 Fe 1,00 Zn
	EisenZink2	0,28 Fe 1,96 Zn	0,08 Fe 0,59 Zn
	EisenZink3	0,49 Fe 0,59 Zn	0,15 Fe 0,18 Zn

Elemente	Probenbezeichnung	Massenanteil Nanopartikel im Copolymer [wt%]	Massenanteil Nanopartikel auf der Faser [wt%]
Kupfer, Eisen	KupferEisen1	2,38 Cu 0,64 Fe	0,71 Cu 0,19 Fe
	KupferEisen2	0,47 Cu 0,46 Fe	0,14 Cu 0,14 Fe
	KupferEisen3	1,24 Cu 0,42 Fe	0,37 Cu 0,13 Fe
Kupfer, Eisen, Zink	KupferEisenZink1	0,36 Cu 0,01 Fe 0,85 Zn	0,11 Cu 0,05 Fe 0,26 Zn

Die Faser wurde vorsichtig mit einem Porzellanskäppl von der Aluminiumfolie abgelöst und in Stücke von ca. 2,5 mg geschnitten. Von jeder Probe wurden für eine Dreifachbestimmung jeweils drei Teilstücke verwendet. Die Faserstücke wurden in Polystyrol-Zentrifugengefäße gegeben, welche zuvor dreimal mit 2 %iger Salpetersäure und MilliQ-Wasser gereinigt und anschließend getrocknet wurden. Jedes Faserteilstück wurde mit einem 2 mM, wässrigen Piperazin-N,N'-bis(2-ethansulfonsäure) (PIPES)-Puffer (pH 7) versetzt, sodass eine Konzentration von 2,5 g Faser/l Puffer vorlag. Jede Faser wurde zunächst etwa 20 s gewaschen, um eventuell nicht gebundenes Copolymer zu entfernen. Die Proben wurden bei einer konstanten Temperatur von 37 °C und stetiger Bewegung (180 Upm) inkubiert. Nach definierten Zeiten von 0, 2, 4, 6, 8, 10, 24, 48, 72, 96, 100, 103 und 105 Stunden wurde das gesamte Eluat entnommen und durch neuen Puffer ersetzt. Nach 105 Stunden wurde das Eluat entnommen und die Faser dreimal mit 1 %iger Salpetersäure jeweils 30 min im Ultraschallbad behandelt, um die vorhandene Restbeladung zu ermitteln. Bei diesem Vorgang löst sich die Faser vollständig auf. Daraus konnte die Gesamtbeladung der Faser berechnet werden. Die entnommenen Eluatproben wurden bis zur Vermessung mittels Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (engl.: inductively coupled plasma mass-spectrometry (ICP-MS)) bei Raumtemperatur gelagert.

Gelplättchen – Alginat

Zur Herstellung der Alginatplättchen wurden für die Basisschicht 3 % (m/v) Agarose in Leitungswasser gelöst und bei 121 °C für 20 min autoklaviert. Anschließend wurde diese Lösung im Verhältnis 1:1 mit einer Vernetzerlösung, bestehend aus 50 mg/ml Calciumchlorid, gemischt, sodass eine finale Konzentration von 1,5 % (m/v) Agarose und 25 mg/ml CaCl₂ vorlag. Diese Lösung wurde in eine 24er Mikrotiterplatte gegeben und 10 min bei 4 °C getrocknet. Es erfolgte eine Zugabe von 0,5 ml 1,5 %iger (m/v) Alginatlösung auf die Basisschicht, welche innerhalb von 20 min bei Raumtemperatur gelierte. Das Plättchen wurde in eine neue 24er Mikrotiterplatte überführt und dreimal mit Kulturmedium, bzw. Wasser, gewaschen.

Die Testung der Eisenfreisetzung wurde, wie bereits für Fasern beschrieben, durchgeführt.

Gelplättchen – PEG-DA

Die Herstellung von PEG-DA-Plättchen und die Ionenfreisetzung wurden von Dipl. Biol. Katharina Brändle¹⁵ durchgeführt.

Aus dem mit Nanopartikeln beladenen Polyethylenglykol diacrylat (PEG-DA) wurden für die Freisetzungstests zunächst Plättchen hergestellt. Dazu wurde eine Lösung von 100 mg/ml Photoinitiator (Irgacure) in Ethanol (70 %) hergestellt und unter Lichtausschluss gelagert. Eine PEG-DA-Lösung wurde bei Raumtemperatur im Verhältnis 1:1 (v:v) mit entgastem MilliQ-Wasser gemischt und mit 20 µl Photoinitiator (je 2 ml PEG-DA-Lösung) versetzt. Objektträger und Quarzgläser wurden mit Isopropanol gereinigt. Die PEG-DA/Wasser/Photoinitiator-Lösung wurde 1:1 (v:v) mit der Nanopartikel-beladenen PEG-DA-Lösung vereinigt und auf den Objektträger gegeben (400 µl je Objektträger) und mit einem Quarzglas abgedeckt. Unter einer UV-Lampe wurde das Gel 30 min auspolymerisiert. Nach dem Ablösen des Glases wurden die Gele mit einem 15 mm Locheisen ausgestanzt und eine Woche getrocknet. Durch Bestrahlung mit UV-Licht wurden diese Plättchen sterilisiert und anschließend in eine 24er Mikrotiterplatte gelegt. Hinzu wurden 2,2 ml HPC-Medium (Stammzell-Wachstumsmedium) pipettiert. Nach 1 h, 5 h, 24 h und 7 Tagen wurde das Medium von dem Plättchen entnommen und zur Eisenbestimmung mit optischer

¹⁵ Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Institut für funktionelle Grenzflächen (IFG), Arbeitsgruppe Stammzell-Material-Wechselwirkungen, Leitung: Dr. Cornelia Lee-Thedieck

Emissionsspektrometrie mittels induktiv gekoppelten Plasma (engl.: inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES)) untersucht. Für jeden Zeitpunkt wurde ein Gelplättchen verwendet.

5.4 Hautproben-Analyse

Die Präparation der Vollhautwunden an Ratten, die Akquise der getesteten Menschenhaut, sowie deren Trocknung und Gewichtsbestimmungen erfolgte durch M.Sc. Vincent Coger¹⁶. Der dazu notwendige Tierversuchsantrag wurde von der Medizinischen Hochschule Hannover gestellt und bewilligt.

In den Tierversuchen wurden von 27 Ratten Hautproben entnommen. Dazu wurden die Tiere in Narkose gelegt, der Rückenbereich rasiert, desinfiziert und mit einer Stanze (6 mm Durchmesser) sechs Wunden (drei Wunden pro Rückenseite) erzeugt. Die so erhaltenen Wunden werden im Folgenden als „Normalhaut“ bezeichnet. Die Wunden wurden mit einem Verband bedeckt. Nach unterschiedlichen Zeitintervallen wurden die Ratten getötet (jeweils drei Ratten pro Zeitpunkt), der Verband entfernt und erneut an den Wundstellen Hautproben mittels Stanze (8 mm Durchmesser) entnommen. Die Probennahmen erfolgten nach 8, 16, 24, 48, 72, 120, 168, 240 und 336 Stunden nach der ersten Wundsetzung. Die entnommenen Proben wurden getrocknet (vgl. Abb. 22).



Abbildung 22: Probenfotos der getrockneten Rattenhaut.

Die so erhaltenen Gewebeproben wurden mittels Mikrowellenaufschluss behandelt und über ICP-MS auf ihre Elementkonzentrationen analysiert. Die dazu benötigte Probenvorbereitung, sowie die –nachbereitung, wurden von B.Sc. Marcus Hildebrandt¹⁷ im Rahmen seiner Bachelorarbeit sowie von Dr. Milen Nachev¹⁸, welcher auch die ICP-MS-Bedienung übernahm, durchgeführt. Die graphische Auswertung erfolgte durch M.Sc. Nina Million.

¹⁶ Medizinischen Hochschule Hannover, Leitung: Prof. Dr. Kerstin Reimers und Prof. Dr. Peter M. Vogt

¹⁷ Technische Chemie I, Universität Duisburg-Essen, Betreuer: M.Sc. Nina Million, Leitung: Prof. Dr. Stephan Barcikowski

¹⁸ Aquatische Ökologie, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Bernd Sures

Mit den Gewebeproben wurde ein Mikrowellenaufschluss durchgeführt. Das Gewebe wurde in die Aufschlussgefäße gefüllt und mit 1,3 ml Salpetersäure (65 %ig) und 2,5 ml Wasserstoffperoxid (30 %ig) versetzt. Nach dem Aufschluss bei 600 W wurden die Probelösungen in 5 ml Messkolben gefüllt und auf das volle Volumen mit bi-distilliertem Wasser aufgefüllt. Bis zu ihrer Messung lagerten die Proben verschlossen bei Raumtemperatur.

Für die Bestimmung der Ionenkonzentrationen erfolgte eine Verdünnung der Proben 1:10 (v:v) mit einem internen Standard, welcher eine Mischung aus 1 %iger Salpetersäure, 10 µg/l Yttriumstandard und 10 µg/l Thuliumstandard enthält. Des Weiteren wurde eine Kalibrationsreihe aus elf Verdünnungen eines Multielementstandards durchgeführt. Mit dessen Regression mit einem Korrelationsfaktor von $\geq 0,999$ können die Konzentrationen der Probelösungen berechnet werden. Die Messung erfolgte über ein Quadrupol Massenspektrometer mit induktiv gekoppeltem Plasma. Die Betriebsleistung lag bei 1000 W bei einem Zerstäuber-Gasstrom von 0,95 ml/min, einem Plasma-Gasstrom von 14 ml/min und einem Proben-Gasstrom von 1 ml/min. Nach jeder Messung wurde die Apparatur mit 1 %iger Salpetersäure 10 s gespült. Nach jeder zehnten Messung erfolgte eine Kontrolle der Stabilität und Genauigkeit der Messung über einen Multielementstandard.

Die Validierung dieser Messmethode wurde über die Messung von drei verschiedenen Elementen, Eisen, Kupfer und Zink, in zwei unterschiedlichen Referenzmaterialien, Muschelgewebe (Oyster tissue) und marines Fischhomogenat (DORM-3) durchgeführt. Von jedem Material wurden fünf Proben mit der gleichen Masse mittels Mikrowellenaufschluss aufgeschlossen und danach vermessen.

5.5 Mechanische Testungen

Alginate-Hydrogele

Die mechanischen Testungen der Nanopartikel-beladenen Alginat im Vergleich zum reinen Material wurden von M.Sc. Andreas Blaesser¹⁹ durchgeführt.

Quellvermögen und Kontaktwinkelmessung

„Zunächst wurden Plättchen mit einer Höhe von 2,6 mm und einem Durchmesser von 15,6 mm aus den Alginate-Lösungen hergestellt. Die Masse dieser Plättchen wurde bestimmt und die Proben über einen Zeitraum von 8 Tagen in 8 ml 2 mM PIPES-Lösung (pH 7,5) gelagert. Die Masse der Plättchen wurde zu den Zeitpunkten 24, 48, 96 und 192 Stunden erneut bestimmt, um das Quellvermögen zu ermitteln. Nach jeder Wägung wurde das Medium erneuert.

Zur Bestimmung der Hydrophilie wurden Kontaktwinkelmessungen mit MilliQ-Wasser mit Tropfenvolumen von 5 µl und 10 µl durchgeführt. Als Vergleichsmaterial wurde hydrophobes Polystyrol, welches auch für Gewebezüchtungen verwendet wird, hinzugezogen. Die Messung des Kontaktwinkels erfolgte senkrecht zur Oberfläche mit einer Digitalkamera (Canon EOS 7D).“ [197]²⁰

Zugfestigkeitstest

„Zur Testung der Zugfestigkeit wurden elliptische Ringe von 4,5 mm Höhe und einer Querschnittsfläche von 4,5 x 4 mm² aus den Alginate-Lösungen hergestellt (nach dem Protokoll zur Plättchenherstellung). Die Ringe wurden in der Testapparatur (Z 2.5) befestigt und bei Raumtemperatur auf ihre Zugfestigkeit getestet. Dabei wurde eine Zugrate von 4 mm/min gewählt.“ [197]²⁰

¹⁹ Universitätsklinikum RWTH Aachen, Zahnärztliche Werkstoffkunde und Biomaterialforschung, Leitung: Univ.-Prof. Dr.-Ing. Horst Fischer

²⁰ Nano Research, Laser-based in situ embedding of metal nanoparticles into bioextruded alginate hydrogel tubes enhances human endothelial cell adhesion, 9(11), 2016, 3407-3427, A. Blaesser, N. Million, D. F. Duarte Campos, L. Gamrad, M. Köpf, C. Rehbock, M. Nachev, B. Sures, S. Barcikowski, and H. Fischer, Copyright Tsinghua University Press and Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2016. With permission of Springer. The final publication is available at Springer Nature via <http://dx.doi.org/10.1007/s12274-016-1218-3>.

5.6 Biologische Testungen

Mikrogele

Sämtliche biologischen Testungen der Copolymere (mit und ohne Nanopartikel) sowie die Zellisolationen und -kultivierungen wurden von M.Sc. Vincent Coger²¹ durchgeführt.

Zellisolation und -kultivierung

„Die verwendeten humanen Fibroblasten (hd-FB; engl.: human dermal fibroblasts) und Keratinozyten (h-KC; engl.: human keratinocytes) wurden aus der operativ entfernten Haut von gesunden Frauen (n=3) isoliert. Die Isolation und Zellkultivierung wurden durch Mirastschijski *et al.* bereits beschrieben. [198] Für die Isolation der Keratinozyten wurde die Epidermis durch Dispase II (2 U/ml) und 0,05 % Trypsin-ethyldiamintetraessigsäure (T/E) (PAA; L11-003) aufgeschlossen, während für die Fibroblasten der Aufschluss der Dermis mit Kollagenase CLS 1 erfolgte. Die Zellkultivierung erfolgte bei 37 °C und einer fünfprozentigen CO₂-Atmosphäre im Inkubator. Dabei wurde den Keratinozyten das Keratinozyten-Wachstumsserum 2, den Fibroblasten DMEM-F12, 10 % Fetales Kälberserum (FBS; engl.: Foetal Bovine Serum) und 0,5 % (w/w) L-Ascorbinsäure-2-phosphat zugesetzt. Zu beiden Medien wurde zusätzlich 1 % Penicillin/Streptomycin hinzugefügt. Eine Trypsinierung erfolgte nach einer Waschung mit phosphatgepufferter Salzlösung (PBS; engl.: phosphate buffer saline) durch die Zugabe von T/E 0,25 %/0,02 % (Merck Millipore; L2163), was durch die Zugabe von FBS und PBS gestoppt wurde. Danach wurden die Zellen bei 150 g fünf Minuten zentrifugiert und erst erst nach dem dritten Kultivierungsdurchgang verwendet.“ [199]²²

Elution von Copolymeren

„Die trockenen Copolymere, bzw. Fasern mit und ohne Copolymer, wurden mit Kulturmedium versetzt, sodass eine Konzentration von 8 mg Feststoff auf 1 ml Medium vorlag. Die Mischung wurde bei 37 °C für 24 h geschüttelt und im Anschluss bei 10.000 g 10 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde abgenommen und zweimal durch einen 0,22 µm Spritzenfilter (TPP; 99722) filtriert.“ [199]²²

²¹ Medizinischen Hochschule Hannover, Leitung: Prof. Dr. Kerstin Reimers und Prof. Dr. Peter M. Vogt

²² Water-based, surfactant-free cytocompatible nanoparticle-microgel-composite biomaterials – rational design by laser synthesis, processing into fiber pads and impact on cell proliferation, *BioNanoMaterials*, 18(3-4), 2017. <http://dx.doi.org/10.1515/bnm-2017-0004>.

Proliferations- und Zytotoxizitätstests

„In eine 96er Mikrotiterplatte wurden die Zellen mit einer Konzentration von 105 Zellen pro 100 µl pro Näpfchen ausgesät und über Nacht bei Kultivierungsbedingungen zur Zelladhäsion gelagert. Danach wurden 100 µl Medium inklusive der verschiedenen Eluate (doppelt konzentriert) hinzugefügt und für 24 h bei Kultivierungsbedingungen aufbewahrt. Die Lyse-Kontrolle wurde für 10 Minuten mit 0,9 ‰ (v/v) Trixon-X behandelt. Für die CytoTox-One™-Testungen wurden 100 µl Medium in eine neue Platte gefüllt. CellTiter-Blue®- und CytoTox-One™-Testungen wurden wie von Promega beschrieben durchgeführt, mit der leichten Abänderung der Inkubationszeit auf 3 h und 10 Minuten. Die Messungen wurden an einem Tecan GENios mit einem Anregungsfilter von 560 ± 10 nm und einem Emissionsfilter von 590 ± 20 nm durchgeführt.“ [199]²³

Scratchtest

„Für die Scratchtests wurden die Zellen in einer 6er Mikrotiterplatte ausgesät und unter stetigem Fluss kultiviert. Anschließend wurde das Zellmedium entfernt und auf der Oberfläche der Zellen ein Spalt mit einer 100 µl Pipettenspitze gekratzt. Die nicht-adhären Zellen wurden mit PBS abgewaschen und neues Medium, inklusive der unterschiedlichen Eluate zum Zeitpunkt $t = 0$, hinzugegeben. Die Breite des Spaltes zu Beginn wurde mittels Kontrastbilder festgehalten. Die Schließung des Spaltes wurde unter einem Fluoreszenzmikroskop nach 48 Stunden bestimmt, nachdem die Zellen mit Calcein-AM eingefärbt wurden.“ [199]²³

Statistik

„Es wurden SPSS Statistiken (IBM; V22) genutzt, um die Resultate mittels ANOVA und Bonferroni-Tests zu analysieren. Signifikanzen wurden mittels $p > 0,05$ angegeben.“ [199]²³

²³ Water-based, surfactant-free cyto-compatible nanoparticle-microgel-composite biomaterials – rational design by laser synthesis, processing into fiber pads and impact on cell proliferation, BioNanoMaterials, 18(3-4), 2017. <http://dx.doi.org/10.1515/bnm-2017-0004>.

Alginate-Hydrogele

Die nachfolgenden Testungen der Alginat wurden von M.Sc. Andreas Blaeser²⁴ durchgeführt.

Für die biologischen Testungen der Nanopartikel-Alginat-Komposite wurden zur Vereinfachung der Zellbesiedelung und der Mikroskopie Plättchen hergestellt, die durchschnittlich 2,6 mm hoch und 15,6 mm im Durchmesser waren. Die Herstellung dieser Plättchen und die Durchführung der zweidimensionalen und dreidimensionalen Zelltestungen sind in Abbildung 23 dargestellt.

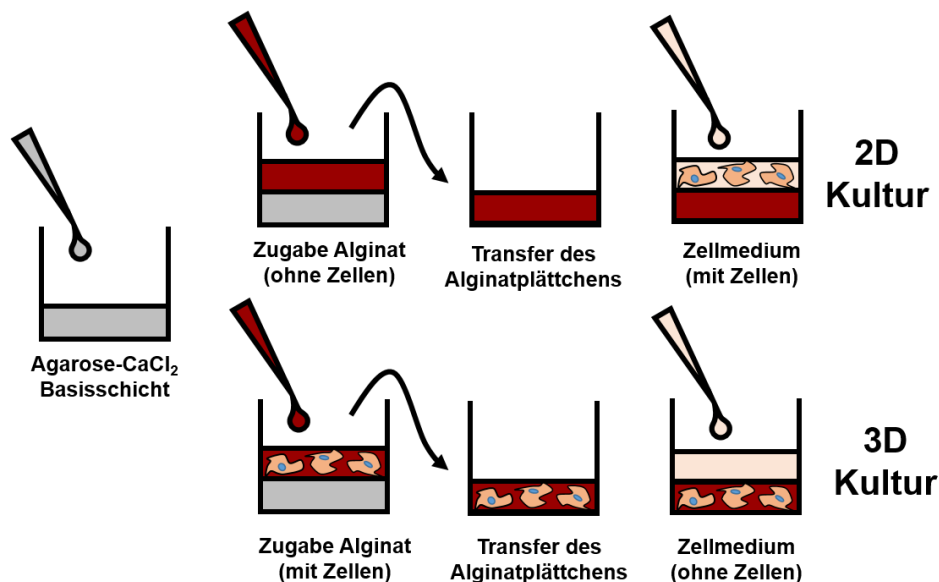


Abbildung 23: Präparation von Nanopartikel-beladenen Alginatplättchen. Für 2D-Experimente werden Zellen auf der Oberfläche der Plättchen (1,5 % m/v) kultiviert, für 3D-Experimente werden Zellen in den Alginatplättchen (0,75 % m/v) eingekapselt. [199]²⁵ Dieses Schema wurde erstellt und zur Verfügung gestellt von M.Sc. Andreas Blaeser²⁶.

Die genaue Herstellung der Plättchen wurde bereits in Abschnitt 5.3 beschrieben. „Zu den Plättchen wurden 0,5 ml einer Zellmediumsuspension (40.000 Zellen/ml) gegeben. Für die 3D-Experimente wurde die Alginatlösung mit Zellen im Kulturmedium gemischt und dann zur Basisschicht in einer resultierenden Konzentration von 0,75 % (m/v) Alginat und 10⁶ Zellen/ml hinzugegeben. Nach dem Gelieren wurden auch diese

²⁴ Universitätsklinikum RWTH Aachen, Zahnärztliche Werkstoffkunde und Biomaterialforschung, Leitung: Univ.-Prof. Dr.-Ing. Horst Fischer

²⁵ Nano Research, Laser-based in situ embedding of metal nanoparticles into bioextruded alginate hydrogel tubes enhances human endothelial cell adhesion, 9(11), 2016, 3407-3427, A. Blaeser, N. Million, D. F. Duarte Campos, L. Gamrad, M. Köpf, C. Rehbock, M. Nachev, B. Sures, S. Barcikowski, and H. Fischer, Copyright Tsinghua University Press and Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2016. With permission of Springer. The final publication is available at Springer Nature via <http://dx.doi.org/10.1007/s12274-016-1218-3>.

²⁶ Universitätsklinikum RWTH Aachen, Zahnärztliche Werkstoffkunde und Biomaterialforschung, Leitung: Univ.-Prof. Dr.-Ing. Horst Fischer

Plättchen überführt und gewaschen. Zuletzt erfolgte eine Zugabe von Medium ohne Zellen. Sowohl die 2D- als auch die 3D-Proben wurden sieben Tage bei 37 °C und 5 % CO₂ inkubiert. Es wurden zwei Arten von Zelltypen für die Experimente verwendet. Mit L929 Mausfibroblasten erfolgten 2D- und 3D-Durchführungen und mit humanen Endothelzellen (engl.: human umbilical vein endothelial cells, HUVECs) ausschließlich 2D-Testungen. Für die mikroskopische Analyse wurden die Plättchen mit 20 µl Farbstoff, bestehend aus 0,083 mg/ml Fluorescein diacetat und 0,083 mg/ml Propidium iodid in einer Ringerlösung, angefärbt.

Zur Aufnahme von Immunfluoreszenz-Bildern wurden HUVECs von jeweils drei unabhängigen Spendern zwei Tage auf den jeweiligen Alginateplättchen kultiviert. Die Zellen wurden mit 4 %igem Paraformaldehyd 10 Minuten fixiert und anschließend mit PBS gewaschen. Das zytoskelettale Protein Actin wurde für 20 Minuten mit grün fluoreszierendem Phalloidin, 1:50 verdünnt in PBS, angefärbt, gewaschen und der Zellkern anschließend mit DAPI (1:1.000, 2 Minuten) angefärbt.

Mit den erhaltenen Daten wurde eine Signifikanzanalyse mittels zweiseitigem t-Test (* p < 0,05, *** p < 0,005) durchgeführt.“ [199]²⁷

PEG-DA-Gele

Die Differenzierungsexperimente von Stammzellen auf PEG-DA-Plättchen mit und ohne Nanopartikel wurden von Dipl. Biol. Katharina Brändle²⁸ durchgeführt.

Zunächst wurden CD34⁺ hämatopoetische Stamm- und Progenitorzellen isoliert. Diese wurden in einer Konzentration von 1,33*10⁵ Zellen/ml im HPC Wachstumsmedium (Promocell) mit Cytokin Mix E (1 % v/v) und Penicillin/Streptomycin (1 % v/v) ausgesät und für 7 Tage kultiviert.

Eine Stammlösung von 5 g/l Fe(NO₃)₃ wurde 1:100 verdünnt und steril filtriert. Aus dieser Lösung und dem zuvor angesetzten Kulturmedium wurden Verdünnungen mit Konzentrationen von 0,12 mg/ml und 0,09 mg/ml Eisen (Fe³⁺) hergestellt.

²⁷ Nano Research, Laser-based in situ embedding of metal nanoparticles into bioextruded alginate hydrogel tubes enhances human endothelial cell adhesion, 9(11), 2016, 3407-3427, A. Blaeser, N. Million, D. F. Duarte Campos, L. Gamrad, M. Köpf, C. Rehbock, M. Nachev, B. Sures, S. Barcikowski, and H. Fischer, Copyright Tsinghua University Press and Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2016. With permission of Springer. The final publication is available at Springer Nature via <http://dx.doi.org/10.1007/s12274-016-1218-3>.

²⁸ Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Institut für funktionelle Grenzflächen (IFG), Arbeitsgruppe Stammzell-Material-Wechselwirkungen, Leitung: Dr. Cornelia Lee-Thedieck

Die zuvor sterilisierten PEG-DA-Plättchen wurden im HPC Medium gewaschen, 30 min equilibriert und erneut gewaschen. Danach wurden die Gele in eine 24er Mikrotiterplatte gegeben und mit 2,2 ml des entsprechenden Mediums versetzt. Die angesetzten Proben sind in Tabelle 10 aufgelistet.

Tabelle 10: Probenmatrix der Experimente zur Stammzelldifferenzierung.

	Negativ-kontrolle	Positiv-kontrolle	1	2	3	4
Gel	-	-	mit Fe-Nano-partikeln	mit Fe-Nano-partikeln	mit Au-Nano-partikeln	mit Au-Nano-partikeln
Zugabe zusätzliches Fe³⁺	-	0,12 µg/ml	-	0,09 µg/ml	-	0,12 µg/ml

Auf die mit Medium versetzten Gele wurden danach die zuvor sieben Tage kultivierten Zellen vorsichtig in Differenzierungsmedium (siehe Tabelle 11) ausgesät. Die Konzentration der Zellen betrug dabei $5 \cdot 10^4$ Zellen/ml. Die so präparierten Proben wurden für weitere 14 bzw. 21 Tage kultiviert. Zu den Zeitpunkten 0, 14 und 21 Tage wurden jeweils die Gesamtzahl an Zellen sowie die roten und toten Zellen gezählt. Außerdem wurden die Zellen mit Antikörpern für CD34, CD71 und CD235 angefärbt, fixiert und mittels Durchflusszytometrie gemessen, um den Differenzierungsstatus der Zellen zu bestimmen.

Tabelle 11: Zusätze zum HPC Wachstumsmedium. Angaben je 15 ml. Die Angaben in Klammern geben die Endkonzentration an.

Zusatz	zugesetztes Volumen
EPO (4 U/ml)	3,9 µl
Mifepristone (3 µM)	15 µl
Insulin (10 µg/ml)	15 µl
Apo-Transferrin (1,2 mg/ml)	1,8 µl
Poloxamer 188 (0,05 %)	75 µl

6. Ergebnisse und Diskussion

6.1 Laserinduzierte periodische Oberflächenstrukturierung

Die in diesem Kapitel dargestellten Ergebnisse wurden innerhalb einer Kooperation mit Dr. Jörg Krüger und Dr. Jörn Bonse der Bundesanstalt für Materialforschung und –prüfung (BAM), Fachbereich 6.4: Technologien mit Nanowerkstoffen, durchgeführt.

In der industriellen Anwendung finden nanostrukturierte Oberflächen immer häufiger Anwendung. Dabei ist die Nachfrage nach einfachen Strukturierungsprozessen und immer kleineren Strukturen hoch. Eine Möglichkeit der Oberflächenstrukturierung in einem Prozessschritt ist die Bildung von laserinduzierten periodischen Oberflächenstrukturen (LIPSS). Die kleinsten Strukturen, die bisher dabei erzielt werden konnten, sind die HSFL mit den kleinsten bisher beobachteten Perioden auf Titan in Luft mit 65 nm-95 nm. [177] Neben der Materialvariation bietet die Wahl des umgebenden Mediums, z.B. einem Gas oder einer Flüssigkeit, die Möglichkeit der Periodenbeeinflussung. [163] [178] [180] [200] So konnte unter Verwendung von Wasser, Ethanol oder Chloroform gezeigt werden, dass die Perioden der entstehenden LIPSS immer wesentlich kleiner sind als bei der Bestrahlung in Luft. [179] [180] [200] Zudem konnte durch Derrien *et al.* gezeigt werden, dass im Gegensatz zu Luft in Wasser eine Oxidschicht auf der strukturierten Oberfläche von Silizium gebildet wurde. Diese Oxidschicht stellt eine zusätzliche Filmschicht dar, die bei der Bildung der LIPSS beachtet werden muss. Daraus entwickelte sich das sogenannte „Thin-film-SPP-Modell“ (TF-SPP-Modell). Es konnte dabei gezeigt werden, dass die Dicke der Oxidschicht einen Einfluss auf die Periodizität der LIPSS hat. Je dicker, die Schicht ist, desto größer werden die LIPSS-Perioden. [163] Daher kann eine Variation des verwendeten Mediums die Bildung der Oxidschicht und somit auch die Periodizität der LIPSS beeinflussen.

Bisherige Studien betrachteten diesen Einfluss unter Verwendung von Femtosekunden-Pulsen und niedrigen Repetitionsraten (< 2 kHz). [177] [179] [200] [201] In den hier gezeigten Experimenten sollte dieses TF-SPP-Modell validiert sowie die Studien erweitert werden, indem ein Pikosekunden-Lasersystem mit hoher Repetitionsrate (100 kHz) verwendet wurde. Dabei wurde zudem der Einfluss von Prozessparametern, wie dem Brechungsindex der Flüssigkeit und der effektiven Anzahl an Pulsen pro Strahldurchmesser (N_{eff}), systematisch untersucht.

Zur Vorbereitung der Experimente wurden die reinen Titanplättchen mechanisch poliert, um eine extrem glatte Oberfläche zu erhalten. Die Energie der Einzelpulse wurde durch die Messung der Leistung P zwischen Linse und Titanplättchen und dessen Division mit der Repetitionsrate f_{Rep} berechnet. Des Weiteren wurden für verschiedene Pulsenergien und Scangeschwindigkeiten Linien auf einer Titanoberfläche in Luft generiert, um damit den Strahlradius und die Schwellfluenz zur Oberflächenmodifikation zu bestimmen. Die Auswertung erfolgte nach der Methode von Liu *et al.* [202] Dazu wurden mikroskopische Messungen der Linienbreite bei einer Scangeschwindigkeit von 0,4 m/s (Anhang, Abbildung 1) ausgewertet und aus diesen Messwerten unter Annahme einer radialen Strahlsymmetrie eine Auftragung der quadrierten Linienbreite D_{th}^2 gegen die Pulsenergie E_{Puls} (siehe Abbildung 24 a) erstellt. Aus der Steigung der linearen Regression konnte ein Gaußscher Strahlradius $(1/e^2)$ w_0 von 21,3 μm auf der Probenoberfläche bestimmt werden. Der so bestimmte Strahlradius von 21,3 μm weicht nur minimal von dem über Gleichung 11 berechneten theoretischen Strahlradius von 25,4 μm ab. [203]

$$w_0 = \frac{\lambda \cdot f_{\text{Rep}}}{\pi \cdot K \cdot w_P} \quad \text{Gl. 11}$$

Dabei ist λ die vom Laser verwendete Wellenlänge, w_P der einfallende Strahlradius und K die Strahlqualität (mit $K=1/M^2$, mit M^2 = Beugungsmaßzahl) des Lasers. [203] Mit dem graphisch ermittelten Wert ($w_0 = 21,3 \mu\text{m}$) wurden aus den Pulsenergien mittels Gleichung 12 die Peakfluenzen F_0 berechnet. [204]

$$F_0 = \frac{2 \cdot E_{\text{Puls}}}{(\pi \cdot w_0^2)} \quad \text{Gl. 12}$$

Daraus erfolgte die Auftragung der quadrierten Linienbreite D_{th}^2 gegen die Peakfluenz F_0 (Abbildung 24 b) und die Bestimmung des Schnittpunkts der linearen Anpassung mit der x-Achse und damit der Schwellfluenz F_{th} von etwa 0,37 J/cm².

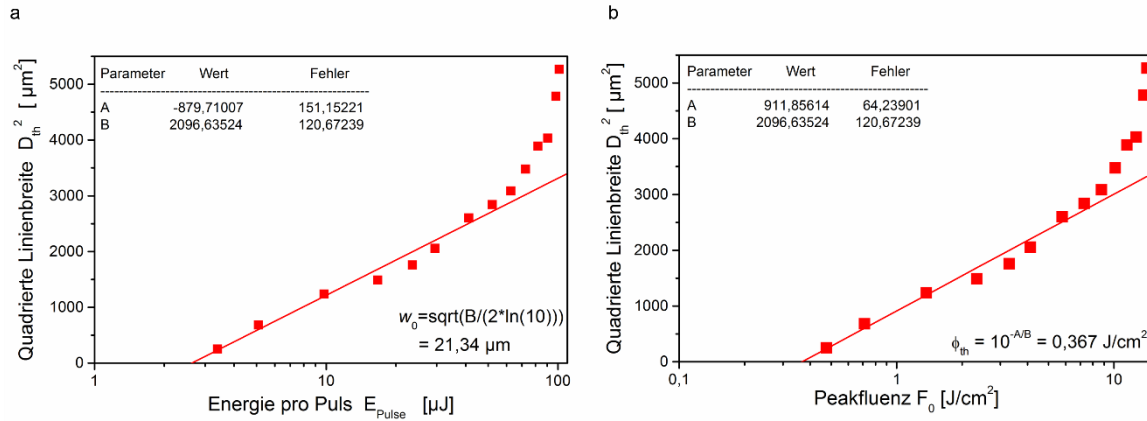


Abbildung 24: Bestimmung des Strahlradius (a) und der Schwellfluenz (b).

Nach der Darstellung der vorbereitenden Experimente werden im Folgenden die Hauptexperimente zur Erzeugung von LIPSS dargestellt, beginnend mit den Versuchen in Luft, gefolgt von denen in Wasser und Solvens.

Experimente in Luft

Um eine Bestrahlung der Metalloberfläche in Luft umzusetzen, wurde das Titanplättchen in eine Batch-Abtragskammer (vgl. Abb. 17, Kapitel 5.1) eingespannt, wobei weder Flüssigkeit eingefüllt noch ein Quarzglasfenster eingebaut wurde. Auf dieses Plättchen wurden dann linienweise Flächen von $0,4 \times 0,4 \text{ mm}^2$ mit Scangeschwindigkeiten von 0,08 bis 0,4 m/s und Linienabständen von $10 \mu\text{m}$ bearbeitet. Für jede Geschwindigkeit v wurde die effektive Anzahl an Pulsen pro fokussiertem Laserstrahldurchmesser ($2 \cdot w_0$) in y-Richtung (Scanrichtung) über Gleichung 13 berechnet. [205]

$$N_{\text{eff}} = \frac{2 \cdot w_0 \cdot f_{\text{Rep}}}{v} \quad \text{Gl. 13}$$

In Abbildung 25 sind die Rasterelektronenmikroskopie (REM)-Aufnahmen bei zwei ausgewählten Peakfluenzen ($0,35 \text{ J}/\text{cm}^2$ und $0,42 \text{ J}/\text{cm}^2$) und drei verschiedenen Geschwindigkeiten (0,08 m/s, 0,16 m/s und 0,40 m/s) mit jeweils einem Übersichtsbild und einer Detailaufnahme zusammengefasst.

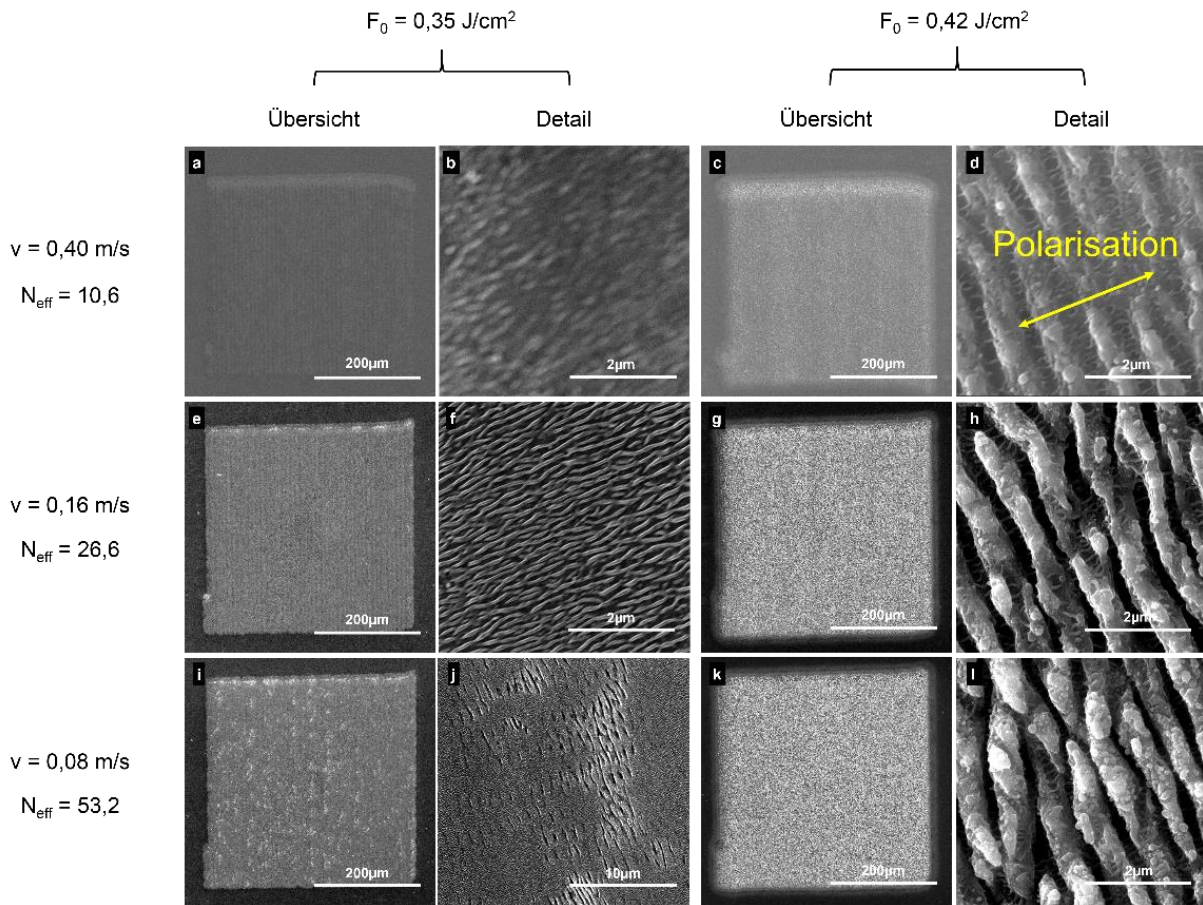


Abbildung 25: Rasterelektronenmikroskopbilder von Titanoberflächen nach der flächenscannenden Pikosekunden-Laserbestrahlung in Luft. Der linke Teil zeigt die Ergebnisse bei der Peakfluenz $F_0 = 0,35 \text{ J/cm}^2$, der rechte Teil zeigt die Ergebnisse bei der Peakfluenz $F_0 = 0,42 \text{ J/cm}^2$, jeweils bei Geschwindigkeiten von 0,08 m/s, 0,16 m/s und 0,40 m/s, 100 kHz und einem Linienabstand von 10 µm. Der gelbe Pfeil in d zeigt die Polarisationsrichtung des Laserstrahls.

Bei einer Fluenz von $0,35 \text{ J/cm}^2$ und der größten Scangeschwindigkeit von 0,40 m/s ($N_{\text{eff}} = 10,6$) ist in der Übersichtsaufnahme eine feine Materialmodifikation zu erkennen, welche in der Detailaufnahme als HSFL-Bildung, parallel zur Polarisation, identifiziert werden kann (vgl. Abb. 25 a und b). Während hier nicht die gesamte bearbeitete Fläche mit HSFL bedeckt ist, führte eine Erniedrigung der Geschwindigkeit auf 0,16 m/s ($N_{\text{eff}} = 26,6$) zu einer homogenen HSFL-Ausbildung mit Perioden von etwa 120 nm (vgl. Abb. 25 e und f), was einem Zehntel der Laserwellenlänge ($\Lambda_{\text{HSFL}} \sim 0,11 \cdot \lambda$) entspricht. Diese Größe ist nur etwas kleiner, als mit 65-95 nm zuvor für fs-Pulse ($\lambda = 790 \text{ nm}$, 30 fs, 1 kHz) berichtet. [177] Eine weitere Verringerung der Geschwindigkeit auf 0,08 m/s ($N_{\text{eff}} = 53,2$) führte zur beginnenden Ausbildung von LSFL, welche senkrecht zur Polarisation ausgerichtet sind (vgl. Abb. 25 i und j). Betrachtet man die höhere Fluenz von $0,42 \text{ J/cm}^2$ so ist erkennbar, dass bei allen Scangeschwindigkeiten eine Ausbildung von LSFL, senkrecht zur Polarisation, vorliegt

(vgl. Abb. 25 c, d, g, h, k und l). Diese sind am stärksten ausgeprägt bei 0,16 m/s und 0,08 m/s ($N_{\text{eff}} = 26,6$ und $N_{\text{eff}} = 53,2$) (vgl. Abb. 25 g, h, k und l). Mit Perioden 30 % kleiner als die Laserwellenlänge (z.B. $\Lambda_{\text{LSFL}} \sim 735 \text{ nm} \sim 0,69 \cdot \lambda$) sind diese ps-LSFL vergleichbar mit früheren Erkenntnissen von fs-LSFL auf Titan (für $N < 100$ und Fluenzen $F_0 < 2 \times F_{\text{th}}$, $\Lambda_{\text{LSFL}} \sim 465\text{-}750 \text{ nm} \sim 0,56\text{-}0,95 \cdot \lambda$). [177]

Zusammenfassend konnte hier gezeigt werden, dass auf Titanoberflächen in Luft beide Arten von LIPSS homogen und großflächig unter der Verwendung hoher Repetitionsraten (100 kHz) in Kombination mit schnellen Scannersystemen, die m/s-Geschwindigkeiten erlauben, produziert werden können. Mit Pikosekunden-Pulsen können HSFL in einer Größenordnung von etwa 100 nm auf einer Titanoberfläche erzeugt werden, was durch die Bestimmung der thermischen Diffusionslänge L_{th} (Gleichung 14) bestätigt werden kann. [206]

$$L_{\text{th}} = \sqrt{2 \cdot S \cdot \tau} \quad \text{Gl. 14}$$

Dabei ist S die Temperaturleitfähigkeit und τ die Laserpulsdauer. [206] Bei der Verwendung von Titan ($S = 0,094 \text{ cm}^2/\text{s}$ [207]) und einer Pulsdauer von 10 ps ergibt sich eine thermische Diffusionslänge von rund 14 nm. Dies bedeutet, dass innerhalb der Pulsdauer der Wärmetransport in Titan auf einer Größenskala stattfindet, die etwa eine Größenordnung kleiner ist als die HSFL-Periode. Daher ist eine räumliche Modulation der aufgenommenen Energie während des gesamten Laserprozesses lateral begrenzt.

Experimente in Wasser

Neben den Experimenten in Luft wurden analoge Versuche in Flüssigkeiten durchgeführt. Zunächst sollte die LIPSS-Bildung in Wasser untersucht werden. Dazu wurde das Titanplättchen in der Abtragskammer befestigt, welche nun ein Quarzglasfenster enthielt. Dazu wurde die Kammer mit Wasser ($n_0 = 1,324$ [208]) befüllt und die Flüssigkeitsschicht über dem Plättchen auf 4 mm eingestellt. Abbildung 26 zeigt die REM-Aufnahmen bei drei ausgewählten Peakfluenzen ($0,35 \text{ J/cm}^2$, $0,42 \text{ J/cm}^2$ und $0,48 \text{ J/cm}^2$) und drei verschiedenen Geschwindigkeiten (0,08 m/s, 0,16 m/s und 0,40 m/s) mit jeweils einem Übersichtsbild und einer Detailaufnahme.

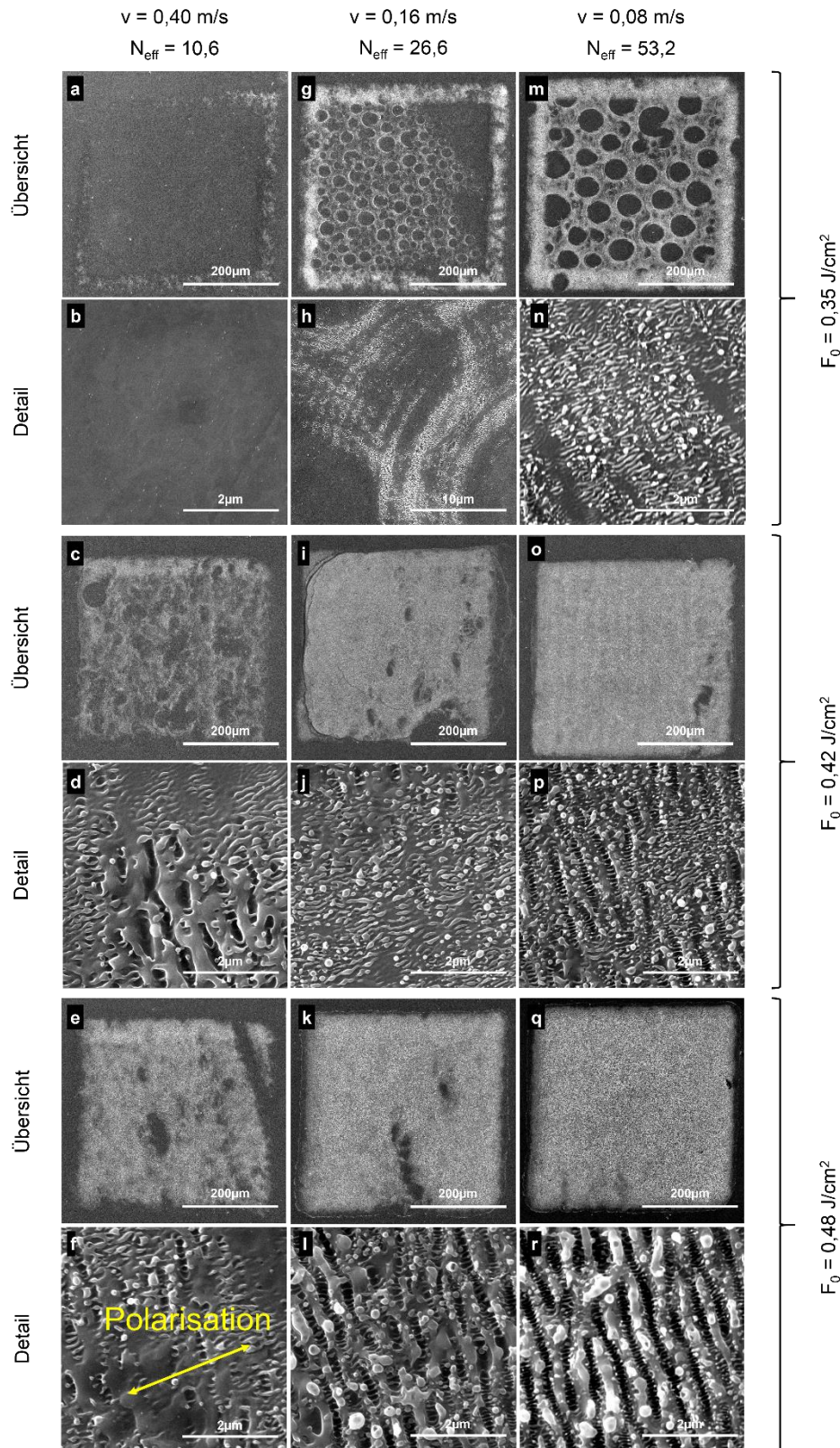


Abbildung 26: Rasterelektronenmikroskopbilder von Titanoberflächen nach der flächenscannenden Pikosekunden-Laserbestrahlung in Wasser. Der obere Teil zeigt die Ergebnisse bei der Peakfluenz $F_0 = 0,35 \text{ J/cm}^2$, der mittlere Teil die Ergebnisse bei der Peakfluenz $F_0 = 0,42 \text{ J/cm}^2$ und der untere Teil die Ergebnisse bei der Peakfluenz $F_0 = 0,48 \text{ J/cm}^2$, jeweils bei Geschwindigkeiten von 0,08 m/s, 0,16 m/s und 0,40 m/s, 100 kHz und einem Linienabstand von 10 μm . Der gelbe Pfeil in f zeigt die Polarisationsrichtung des Laserstrahls.

Bei der niedrigsten Fluenz von $0,35 \text{ J/cm}^2$ und der größten Geschwindigkeit von $0,40 \text{ m/s}$ ($N_{\text{eff}} = 10,6$) ist keine Oberflächenmodifikation sichtbar (vgl. Abb. 26 a und b), lediglich an den Ecken der bearbeiteten Fläche sind Strukturen zu sehen. Dort wird durch die Trägheit des galvanometrischen Spiegel-Systems die Geschwindigkeit reduziert, wenn die Scanrichtung geändert und die nächste Linienposition gesetzt wird. Durch eine Reduzierung der Geschwindigkeit auf $0,16 \text{ m/s}$ bzw. $0,08 \text{ m/s}$ ($N_{\text{eff}} = 26,6$ bzw. $N_{\text{eff}} = 53,2$) erscheinen auf den Übersichtsaufnahmen kreisförmige Strukturen, zwischen welchen sich in der Detailaufnahme HSFL in der Größe von etwa $\Lambda_{\text{HSFL}} \sim 100 \text{ nm} \sim 0,1 \cdot \lambda$, parallel zur Polarisierung, identifizieren lassen (vgl. Abb. 26 g, h, m und n). Innerhalb der Kreise sind keine Strukturen zu finden. Die Lage der HSFL und die Anordnung in feinen, ringförmigen Linien um die Kreisstrukturen herum führen zu der Vermutung, dass Brechungseffekte involviert sind. Die charakteristische Form legt nahe, dass die Ringe durch auftretende Gasblasen, welche mit Lösungsmitteldampf sowie dessen Zersetzungsprodukten H_2 und O_2 gefüllt sind [209] [210], auf der Titanoberfläche verursacht werden. Die Verringerung der Geschwindigkeit resultiert in einer größeren Anzahl pro Pulsen pro Punkt und dadurch in größeren Blasendurchmessern (vgl. Abb. 26 g und m). Bei einer höheren Fluenz von $0,42 \text{ J/cm}^2$ ist keine ausgeprägte Blasenbildung mehr zu beobachten und alle Geschwindigkeiten erzeugen HSFL und LSFL auf der Oberfläche, sichtbar auf den Detailaufnahmen (vgl. Abb. 26 c, d, i, j, o und p). Bei einer Fluenz von $0,48 \text{ J/cm}^2$ ist ausschließlich bei $0,40 \text{ m/s}$ eine HSFL-Bildung zu beobachten (vgl. Abb. 26 e und f). Bei allen anderen Geschwindigkeiten treten nur LSFL senkrecht zur Polarisierung und homogen über die gesamte Fläche auf (vgl. Abb. 26 k, l, q und r). Mit einer Periode von $\Lambda_{\text{LSFL}} \sim 490 \text{ nm} \sim 0,46 \cdot \lambda$ sind diese LSFL etwa 33 % kleiner als die LSFL, die zuvor in Luft beobachtet wurden. In den Tälern der LSFL sind HSFL mit Perioden von etwa 80 nm ($\sim 0,08 \cdot \lambda$) zu erkennen, was auch schon früher bei der ps-Bestrahlung von Stahl in Luft beobachtet wurde. [211] Ihre Existenz scheint direkt mit der Anwesenheit von LSFL verbunden zu sein und sollte von den HSFL, die ohne die Gegenwart von LSFL entstehen, differenziert werden.

An den hier gezeigten Ergebnissen ist interessant, dass die kleinste Fluenz keine Oberflächenmodifizierung in Wasser bewirkte, wohingegen in Luft HSFL generiert wurden (vgl. Abb. 25 a und 26 a). In der Regel wird die Abtragsschwelle stark absorbierender Materialien in Wasser im Vergleich zu Luft reduziert. [163] Daher lassen diese Ergebnisse vermuten, dass der ps-Laserstrahl an der Luft-Quarzglas-

Flüssigkeits-Grenzfläche gebrochen wird, was in einer linearen Verschiebung der Fokusposition resultiert. [150] Es entsteht ein größerer Strahldurchmesser auf der Oberfläche des Targets, was mit einer Verringerung der Fluenz einhergeht, und eine um 5-10 % größere modifizierte Oberfläche in Wasser als im Vergleich zur Bestrahlung in Luft bei gleichen Prozessparametern verursacht (vgl. Abb. 25 i und 26 m).

Zum besseren Verständnis der Prozesse während der Bestrahlung könnte es hilfreich sein die optische Absorption der Laserstrahlung abzuschätzen für den Fall, dass das Titanplättchen mit Wasser ($n_0 = 1,324$) oder mit einer Gasblase ($n_0 \sim 1$) (Kavitationsblase) bedeckt ist. Die Anwesenheit einer Gasblase generiert eine zusätzliche Grenzfläche, die Strahlung reflektieren kann. Außerdem kann eine Kombination der unterschiedlichen Brechungsindizes verschiedener Medien sich auf die Absorption auswirken. Bei der Berechnung der (Fresnel-) Reflektionsverluste der Strahlung müssen alle vorhandenen Grenzflächen in die Berechnung mit einbezogen werden. [163] Die optische Transmission $T_{p,q}$ durch die Grenzfläche zwischen zwei Medien (p und q) wird über Gleichung 15 und unter der Verwendung der Reflektivität $R_{p,q}$ über Gleichung 16 berechnet. Es wird dabei von normal einfallender Strahlung ausgegangen. Ebenfalls muss gelten, dass die Größe der permanenten Blasen wesentlich größer als der Laserstrahldurchmesser ist ($d_{\text{Blase}} \sim 0,3 \text{ mm} \gg d_{\text{Strahl}} = 0,0426 \text{ mm}$ [210]). [163]

$$T_{p,q} = 1 - R_{p,q} \quad \text{Gl. 15}$$

$$R_{p,q} = \left| \frac{\tilde{n}_p - \tilde{n}_q}{\tilde{n}_p + \tilde{n}_q} \right|^2 \quad \text{Gl. 16}$$

\tilde{n}_p und \tilde{n}_q sind die komplexen Brechungsindizes der verwendeten Medien p und q. [163] Von der in die Kammer eintretenden Strahlungsfluenz erreicht nur ein Teil die Targetoberfläche und wird dann in Titan absorbiert. Diese Fluenz F_{abs} kann über die Gleichungen 17 und 18 berechnet werden. [163]

$$F_{\text{abs}} = T_{\text{Zelle}} * F_0 \quad \text{Gl. 17}$$

Mit: [163]

$$T_{\text{Zelle}} = \prod_p T_{p,q=p+1} \quad \text{Gl. 18}$$

Hierbei ist F_0 die einfallende Fluenz und T_{Zelle} die Multiplikation aller Transmissionsfaktoren aller Grenzflächen im Strahlengang. [163]

Durch den Umstand, dass bei der LIPSS-Erzeugung in Luft kein Fenster und keine Flüssigkeit in der Kammer waren, liegt nur die Titan-Luft-Grenzfläche vor und der Transmissionswert ergibt sich nach:

$$T_{\text{Zelle,Luft}} = 1 - R_{\text{Luft/Ti}} = 0,447 \quad \text{Gl. 19}$$

In Wasser wird durch die zusätzlichen Grenzflächen und deren Brechungsindex-Kombinationen etwa 7 % mehr Strahlung auf der Titanoberfläche deponiert.

$$T_{\text{Zelle,Wasser}} = (1 - R_{\text{Luft/Si}}) * (1 - R_{\text{Si/Wasser}}) * (1 - R_{\text{Wasser/Ti}}) = 0,520 \quad \text{Gl. 20}$$

Durch die Anwesenheit einer Gasblase (unter der Annahme, dass deren Phasengrenzfläche senkrecht und quasi planar ist) wird dieser Effekt von Wasser, trotz einer zusätzlichen Grenzfläche, wieder aufgehoben.

$$T_{\text{Zelle,Blase}} = (1 - R_{\text{Luft/Si}}) * (1 - R_{\text{Si/Wasser}}) * (1 - R_{\text{Wasser/Gas}}) * (1 - R_{\text{Gas/Ti}}) = 0,422 \quad \text{Gl. 21}$$

Bei diesen Berechnungen ist zu beachten, dass die bereits erwähnte lineare Verschiebung der Fokusposition in Flüssigkeit den Strahldurchmesser auf dem Target vergrößert und dadurch die einfallende Fluenz F_0 verringert wird. Dies beeinflusst die berechnete absorbierte Fluenz und könnte eventuell den um 7 % größeren Transmissionsfaktor in Wasser kompensieren. Eine Berechnung des ungefähren Spotdurchmessers auf der Tragetoberfläche nach der Brechung an der Luft-Wasser-Grenzfläche ergab einen um etwa 63 % (ca. 27 μm) größeren Durchmesser als an Luft. Dies bedeutet beispielsweise bei einer angenommenen Fluenz in Luft von 0,35 J/cm² eine Fluenz in Wasser von 0,13 J/cm². Die daraus berechneten absorbierten Fluenzen nach Gleichung 17 betragen demnach:

$$F_{\text{abs,Zelle,Luft}} = 0,156 \text{ J/cm}^2$$

$$F_{\text{abs,Zelle,Wasser}} = 0,068 \text{ J/cm}^2$$

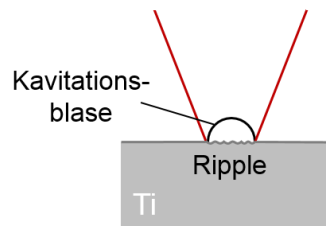
Dadurch ist ersichtlich, dass der um 7 % größere Transmissionsfaktor in Wasser durch die Fokusverschiebung und die dadurch stark reduzierte Fluenz kompensiert wird. Trotz des größeren Transmissionsfaktors wird eine deutlich geringere Fluenz im Titan absorbiert.

Diese Berechnungen bestätigen weiterhin die Hypothese, dass die Kreisregionen bei einer niedrigen Fluenz in Abbildung 26 durch gasgefüllte Blasen, welche während der Laserbestrahlung entstehen, erzeugt wurden.

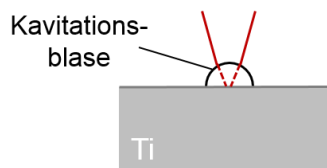
Trifft ein erster Laserpuls auf die Titanoberfläche, so erzeugt dieser eine Kavitationsblase und LIPSS (vgl. Abb. 27 a). Infolge der Laserbestrahlung entstehen permanente Mikroblasen. [210] Kavitationsblasen, die bei der ps-Bestrahlung entstehen, haben einen fluenzabhängigen Durchmesser von ca. 200-1600 μm und Lebensdauern von 10-120 μs . [146] [148] Im Gegensatz dazu zeigten Kalus *et al.*, dass die permanenten Gasblasen in Wasser eine Größe von 300 μm und eine Lebensdauer von Millisekunden bis zu Sekunden haben, unabhängig von der Fluenz. [210] Ist die Lebensdauer τ der Kavitationsblase des ersten Pulses länger als der temporäre Interpulsabstand (hier $\Delta t = 10 \mu\text{s}$), oder die Größe der Kavitationsblase größer als der laterale Pulsversatz (hier $\Delta x = 0,8 \mu\text{m}$, bzw. $\Delta x = 1,6 \mu\text{m}$ und $\Delta x = 4 \mu\text{m}$), so interagiert der folgende Puls mit der durch die Kavitationsblase noch gasbedeckten Titanoberfläche (vgl. Abb. 27 b). [147] [148] Für den hier verwendeten Fluenzbereich lässt sich nach Tomko *et al.* eine Größe und Lebensdauer der Kavitationsblase von etwa 120 μm und 10 μs abschätzen. [146] Nach dieser Abschätzung sollte die Kavitationsblase des ersten Pulses beim Eintreffen des Folgepulses vollständig oder fast vollständig kollabiert sein. Demnach kann der Folgepuls entweder auf eine permanente Gasblase (vgl. Abb. 27 c), neben eine permanente Gasblase (vgl. Abb. 27 e) oder auf eine freie Titanoberfläche treffen. In den blasenbedeckten Regionen wurde durch die Reflektion des Strahls 10 % weniger Energie in Titan absorbiert als im Falle des Direktkontakts mit Wasser. Bei niedrigen Fluenzen führt dies dazu, dass die Energie die Abtragsschwelle von Titan nicht übersteigt ($F < F_{th}$), wodurch keine Oberflächenmodifikation innerhalb der Blase stattfinden kann. Trifft der Laserstrahl die permanente Blase seitlich (vgl. Abb. 27 d), so ist es möglich, dass dieser gebrochen und reflektiert wird, wodurch eine Oberflächenstrukturierung an den Blasenrändern stattfinden kann. Dies konnte auch schon von Zhang *et al.* beim Laserschneiden von Germanium beobachtet werden. [212] Im Fall von hohen Fluenzen liegt die absorbierte Energie auf der Titanoberfläche in der Gasblase weiterhin über der Abtragsschwelle ($F > F_{th}$) und führt zur Oberflächenmodifikation innerhalb der Blase. Durch die zuvor geschilderten Transmissionsfaktoren entstehen so die HSFL und LSFL mit nahezu denselben Charakteristika wie in Luft.

1. Puls:

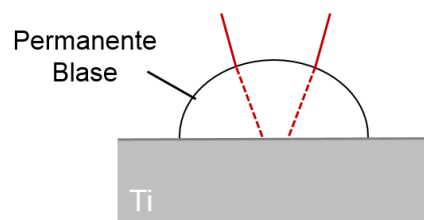
a

**2. Puls:**

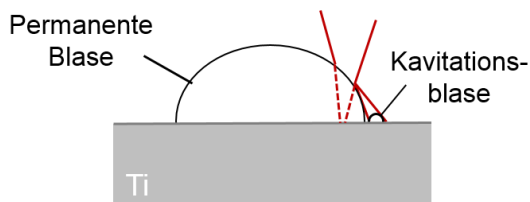
b



c



d



e

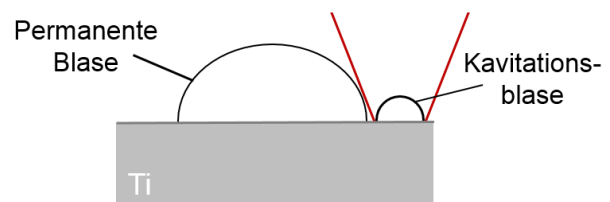


Abbildung 27: Schema der möglichen Interaktionen eines Laserpulses mit der Titanoberfläche (a) und eines zweiten Laserpulses mit der Kavitationsblase des ersten Pulses (b) bzw. mit permanenten Blasen (c-e).

Es konnte beobachtet werden, dass entstehende permanente Gasblasen makroskopisch auf der Oberfläche migrieren können. Abbildung 28 zeigt eine weitere REM-Aufnahme nach der Bestrahlung in Wasser bei einer Fluenz von $0,36 \text{ J/cm}^2$ und einer Geschwindigkeit von $0,08 \text{ m/s}$ ($N_{\text{eff}} = 53,2$).

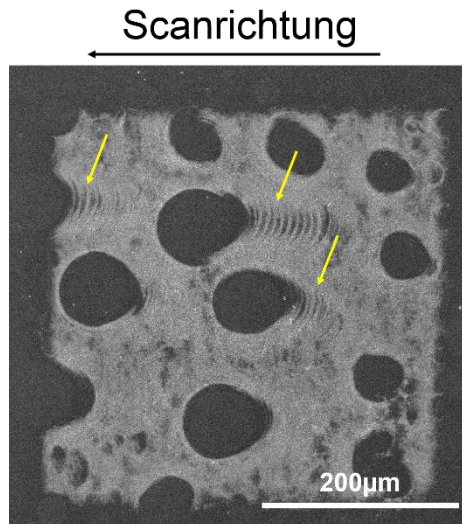


Abbildung 28: Rasterelektronenmikroskopbild einer Titanoberfläche nach der flächenscannenden Pikosekunden-Laserbestrahlung in Wasser ($F_0 = 0,36 \text{ J/cm}^2$, $v = 0,08 \text{ m/s}$, $f_{\text{Rep}} = 100 \text{ kHz}$, $\Delta x = 10 \text{ µm}$). Die Pfeile markieren einige Bereiche, wo die Brechungseffekte an den Gasblasen auf der Probenoberfläche abgebildet sind und die dynamische Bewegung der (wachsenden) Blase während des Scanprozesses belegen.

In Abbildung 28 sind einige makroskopische Gasblasen auf der Titanoberfläche zu erkennen. Während des Scanprozesses (von oben nach unten, von rechts nach links) wachsen die Blasen in ihrer Größe an, adsorbieren jedoch auf der Oberfläche. Wenn eine Blase klein genug ist, so kann diese durch eine neben die permanente Blase gesetzte Kavitationsblase horizontal nach links verschoben werden (vgl. Abb. 28 e). Diese dynamische Verschiebung ist durch die mit Pfeilen markierten optischen Beugungseffekte an den rechten Ecken der Blasen auf der Oberfläche deutlich zu erkennen. Bei Überschreitung einer kritischen Blasengröße bleiben die Blasen an einer Stelle adsorbiert.

Experimente in organischen Lösungsmitteln

Nachdem die LIPSS-Bildung in Wasser untersucht wurde, wurden zum Vergleich Experimente in organischen Lösungsmitteln durchgeführt. Die Abtragskammer wurde wahlweise mit Methanol ($n_0 = 1,320$ [208]) oder THF ($n_0 = 1,397$ [208]) befüllt. Die zu den Versuchen zugehörigen REM-Aufnahmen bei einer Peakfluenz von $1,37 \text{ J/cm}^2$ und einer Scangeschwindigkeit von $0,08 \text{ m/s}$ sind in Abbildung 29 im Vergleich mit Wasser in jeweils einer Übersichts- und einer Detailaufnahme zusammengestellt.

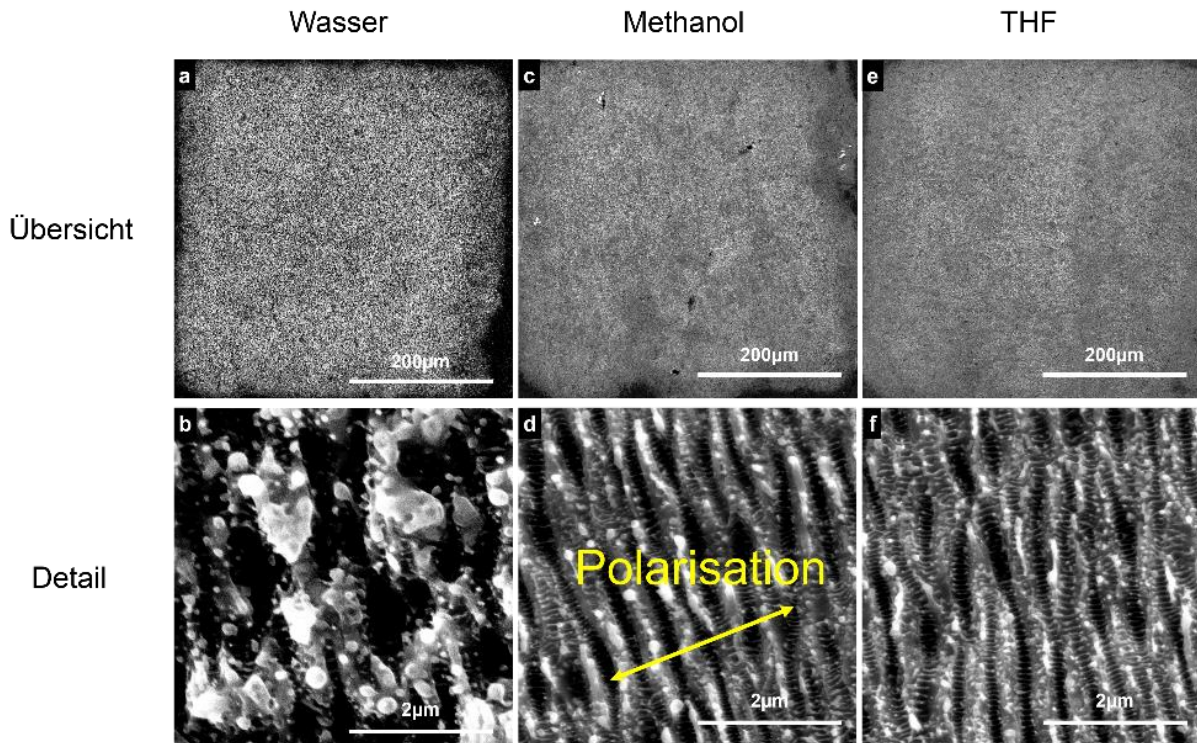


Abbildung 29: Rasterelektronenmikroskopbilder von Titanoberflächen nach der flächenscannenden Pikosekunden-Laserbestrahlung in Wasser (a und b), Methanol (c und d) und THF (e und f) bei einer Peakfluenz $F_0 = 1,37 \text{ J/cm}^2$ und einer Geschwindigkeit von 0,08 m/s, 100 kHz und einem Linienabstand von 10 µm. Der gelbe Pfeil in d zeigt die Polarisationsrichtung des Laserstrahls.

In Abbildung 29 a, c und e ist deutlich sichtbar, wie bereits auch für kleinere Pulsenergien gezeigt werden konnte, dass die modifizierte Oberfläche die auf die nominelle Abtragsfläche skalierte REM-Bildgröße übertrifft. Dies bestätigt erneut die Verschiebung der Fokusposition durch die Brechung des Strahls an der Flüssigkeits-Luft-Grenzfläche. Da der Brechungsindex von THF größer ist als von Wasser und Methanol, ist dort die Fokusverschiebung und damit der Strukturbereich deutlich größer. In den Vergrößerungen zeigen sich ausgebildete LSFL senkrecht zur Polarisation für Methanol und THF (vgl. Abb. 29 d und f), während für Wasser die Fluenzgrenze für die LSFL-Bildung bereits überschritten ist. Dadurch entstehen die in Abbildung 29 b dargestellten irregulären Oberflächenerscheinungen. Da Wasser und Methanol fast denselben linearen Brechungsindex aufweisen, kann dieser Effekt nicht auf die Kopplungseffizienz im Titan (Transmissionsfaktoren $T_{\text{Zelle,Wasser}} = 0,520$ und $T_{\text{Zelle,MeOH}} = 0,519$ sowie $T_{\text{Zelle,THF}} = 0,538$) oder der Brechungsindex-abhängigen Verschiebung der Fokusposition zurückgeführt werden. Daher müssen andere Effekte involviert sein, welche in dieser Studie jedoch nicht identifiziert werden konnten.

Vergleich der LIPSS-Charakteristika

Aus den aufgenommenen REM-Aufnahmen wurden die räumlichen Perioden der LIPSS, durch Messung des Abstandes von der Mitte der Erhebung einer Struktur zur nächsten, ausgewertet und als Funktion des Brechungsindizes der verwendeten Medien aufgetragen. Für jeden Datenpunkt wurden jeweils nur die Werte des gleichen N_{eff} -Wertes verwendet (vgl. Abb. 30).

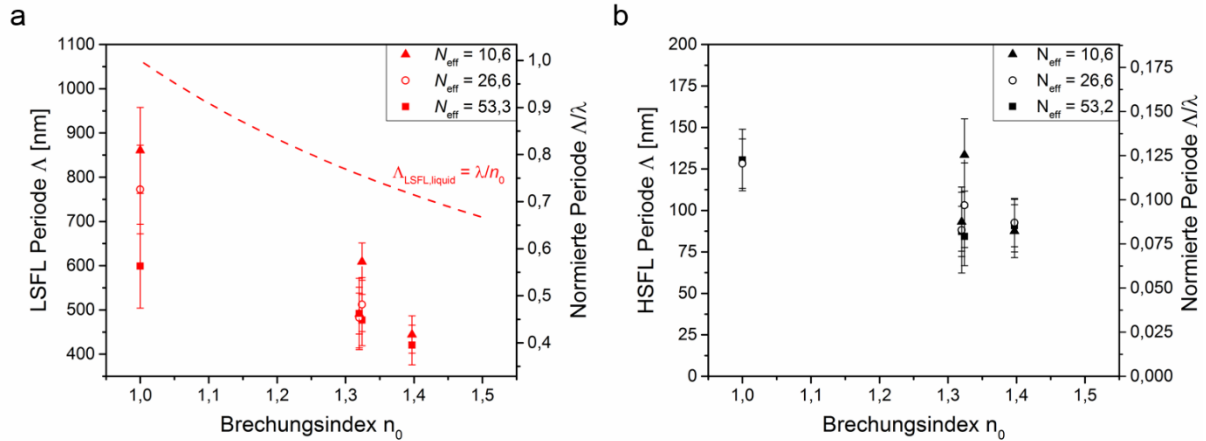


Abbildung 30: LIPSS Perioden (LSFL in a und HSFL in b) auf Titanoberflächen als Funktion des Brechungsindizes des umgebenden Mediums (Luft bzw. Flüssigkeiten).

Nach dem Interferenzmodell sollte die Periode der LSFL mit zunehmendem Brechungsindex (des Mediums, da das Targetmaterial undurchlässig für die Laserwellenlänge ist) nach der Beziehung $\Lambda_{\text{LSFL}} = \lambda/n_0$ abnehmen. [164] [174] [179] [181] Zum Vergleich mit diesem Modell wurden die danach zu erwartenden Werte als gestrichelte, rote Linie in Abbildung 30 a hinzugefügt. Die LSFL-Perioden nehmen wie erwartet mit steigendem n_0 -Wert ab (900 nm bis 400 nm), liegen jedoch deutlich unterhalb der theoretischen Kurve (vgl. Abb. 30 a). Neben dem Interferenzmodell existiert ein weiteres Modell zur Berechnung erwarteter LSFL-Perioden, was unter anderem von Albu *et al.* beschrieben wurde. Dabei wird die Periode nach Gleichung 22 berechnet. [in 200]

$$\lambda_{\text{SP}} = \lambda_0 * \text{Realteil} \left[\sqrt{\frac{(n_d + n_m)}{(n_d * n_m)}} \right] \quad \text{Gl. 22}$$

In dieser Formel ist λ_0 die Laserwellenlänge, n_d der quadrierte Brechungsindex des Mediums und n_m der quadrierte Brechungsindex des Metalls, inklusive des Imaginärteils. [in 200] Dieses Modell gilt nur für perfekt glatte Oberflächen und Einzelpulsexperimente [in 200], wodurch bereits ersichtlich ist, dass es nur

näherungsweise bzw. qualitativ auf unseren Versuchsaufbau anwendbar ist. Die Anregungsbedingung der SPP ist definiert mit $n_r = \text{Realteil}(n_{Ti}) < 0$ [in 200] und wird in unserem Fall mit $n_r = 0,3355$ nicht erfüllt. Zudem muss gelten, dass $|n_r| > n_d$ ist [in 200], was bei einer Wellenlänge von 1064 nm nicht der Fall ist. Neben diesen offensichtlichen nicht erfüllten Bedingungen führt die Berechnung der Perioden zu einem fast identischen Verlauf wie für das Interferenzmodell und passt quantitativ nicht, sondern nur qualitativ, zu den gemessenen Werten.

Zusätzlich zeigen die Verläufe der LIPSS-Perioden in Abbildung 30, dass diese auch mit steigendem N_{eff} -Wert, korrelierend mit der Scangeschwindigkeit v (vgl. Gl. 13), sinken. Die LSFL-Strukturen, welche in Lösungsmitteln erzeugt wurden, sind ca. 15-45 % kleiner als in Luft, abhängig von N_{eff} und n_0 . Die Perioden der HSFL sind zwischen 80 nm und 150 nm groß, zeigen jedoch keinen ausgeprägten Trend und scheinen so gut wie unabhängig vom Brechungsindex und der effektiven Anzahl an Pulsen zu sein (vgl. Abb. 30 b). Die HSFL-Strukturen sind aber für alle Lösungsmittel um ca. 45 % kleiner als in Luft.

Zur Veranschaulichung wurden die Daten aus Abbildung 30 in Abbildung 31 zusätzlich als Funktion von N_{eff} geplottet.

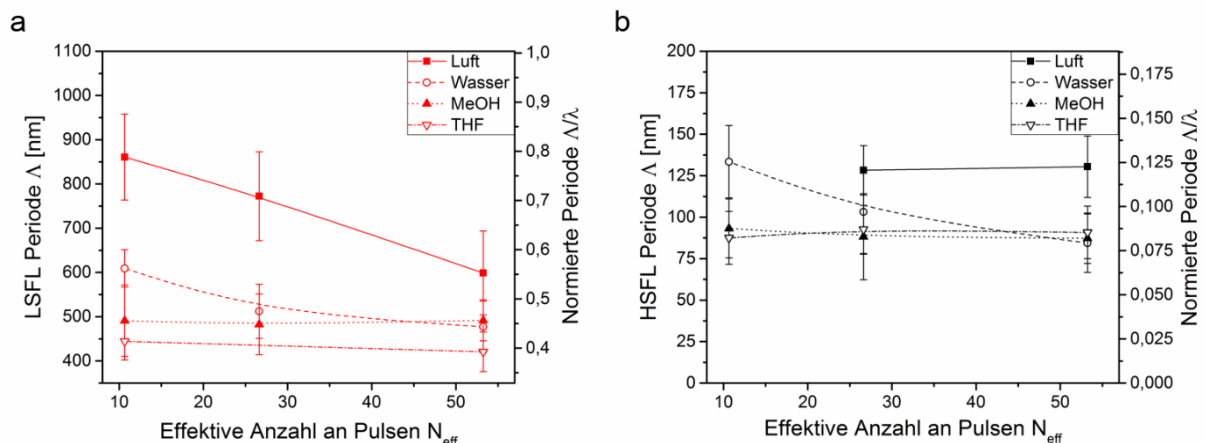


Abbildung 31: LIPSS Perioden (LSFL in a und HSFL in b) auf Titanoberflächen als Funktion der effektiven Anzahl an Pulsen pro Strahldurchmesser.

Diese Auftragungen bestätigen die zuvor beschriebenen Beobachtungen. Die Perioden der LSFL nehmen am stärksten in Luft ab, die der HSFL zeigen keinen Trend für alle Medien. Lediglich eine stetig kleine Periodizität in Flüssigkeiten im Vergleich zu Luft ist deutlich zu erkennen.

Die Abnahme der LSFL-Perioden von einigen 10 % mit zunehmender Pulszahl wurde bereits für N-on-1 Experimente (Multipulsexperimente) unter Verwendung eines fs-Lasers berichtet. [177] Dieser Effekt wurde einem Kopplungsmechanismus von Laser und Oberflächenplasmonen in bereits bestehenden LSFL zugeschrieben. [182] Wenn durch erste Pulse ein gitterähnliches LSFL-Oberflächenrelief vertieft wird, so verschiebt sich die Resonanzwellenlänge der Oberflächenplasmon-Polaritonen (SPP) zu kleineren Werten. Dies führt zur Abnahme der LSFL-Periode während der Multipuls-Feedbackphase der LIPSS-Bildung. [177] [182] Vermutlich ist hier derselbe Effekt bei der ps-Bestrahlung für die Verkleinerung der LSFL-Periode verantwortlich.

Aufgrund der dargestellten Ergebnisse wurden nachfolgende Schlussfolgerungen für die Bestrahlung mit ps-Pulsen und hohen Repetitionsraten (100 kHz) getroffen:

Wie bisher für fs-Pulse beobachtet, können sowohl HSFL als auch LSFL mit ps-Pulsen sowohl in Luft als auch in Flüssigkeiten erzeugt werden. Im Fluenzregime leicht oberhalb der Abtragsschwelle werden durch Intrapulsanregung von SPPs und der Interferenz ihrer elektromagnetischen Felder mit den einfallenden Laserpulsen LSFL erhalten. Ein SPP-Kopplungsmechanismus mit bereits bestehenden LSFL führt zur Reduktion der LSFL-Perioden mit zunehmender effektiver Anzahl an Pulsen pro Strahldurchmesser. Ein temporärer Interpulsabstand von 10 μs erlaubt die vollständige Verteilung der Laserpulsenergie in Titan durch Prozesse wie die lokale Schmelze, den Abtrag, die Wärmediffusion und weitere. Das abgetragene Material ist für nachfolgende Pulse optisch transparent und schirmt die optische Absorption auf der Titanoberfläche nicht ab. HSFL hingegen bilden sich nahe der Abtragsschwelle und sind nicht abhängig von N_{eff} . Vermutlich sind an deren Bildung oberflächliche Oxidationsprozesse beteiligt. [176] [177]

In Flüssigkeiten müssen abweichende Schlussfolgerungen getroffen werden:

Bei niedrigen Fluenzen ist die Flüssigkeit optisch transparent für die einfallende Laserstrahlung, wodurch die Laserpulse vom Titan absorbiert werden können. Die Interaktion des Laserpulses mit der Targetoberfläche führt zur Bildung von Kavitationsblasen und in deren Folge permanente Blasen auf der Titanoberfläche, welche mit Flüssigkeitsdampf und Zersetzungsprodukten gefüllt sind. [210] In einem engen Fluenzbereich nahe der Abtragsschwelle schirmen diese Blasen (durch zusätzliche Grenzflächen (Fresnel-Reflektion) und Brechungsindex-Kombination) die nachfolgenden Laserpulse ab, wodurch keine Modifizierung der Oberfläche entsteht.

Zusätzlich wird die im Titan absorbierte Fluenz durch die in Wasser auftretende Fokusverschiebung deutlich reduziert, was ebenfalls zur fehlenden Oberflächenstrukturierung beiträgt.

Bei Fluenzen oberhalb der Abtragsschwelle ist der Materialabtrag durch das umgebende Medium begrenzt. Wenn laserinduzierte Kavitationsblasen oder permanente Gasblasen vor dem nachfolgenden Puls nicht kollabiert oder abtransportiert sind, so liegt eine Situation ähnlich wie in Luft vor ($n_{\text{Dampf,Gas}} \approx n_{\text{Luft}}$). Die LSFL werden in dem Fall nach dem zuvor beschriebenen Mechanismus gebildet. Sie besitzen deshalb auch die gleiche Orientierung (senkrecht zur Polarisierung) und ihre Perioden nehmen mit zunehmendem Brechungsindex und N_{eff} ab. Dasselbe gilt für HSFL, welche parallel zur Polarisierung ausgerichtet und unabhängig von den genannten Parametern sind.

Generell lässt sich für LIPSS in Flüssigkeiten also sagen, dass oberhalb einer bestimmten kritischen Repetitionsrate (f_{crit}) mit der Beziehung $f_{\text{crit}} = 1/\tau_{\text{crit}}$, der LIPSS-Bildungsmechanismus dem in Luft entspricht. τ_{crit} bezeichnet dabei die Lebensdauer der entstehenden Kavitationsblasen. Für ps-Pulse auf Titan wird dieser Wert auf weniger als 10 μs geschätzt. [146]

In diesem Kapitel wurde dargestellt, dass mit einem ps-Laser bei hohen Repetitionsraten (100 kHz) in Kombination mit einem schnellen Scansystem sowohl in Luft als auch in verschiedenen Flüssigkeiten homogene LIPSS erzeugt werden können. Die Periode der gebildeten LSFL, senkrecht zur Polarisierung, zeigt eine starke Abhängigkeit vom Brechungsindex und der effektiven Anzahl an Pulsen pro Strahldurchmesser, während die HSFL, parallel zur Polarisierung, keine Abhängigkeiten zeigen. In Flüssigkeiten zeigen sich andere Effekte. Die Periodizität der LSFL folgt dem Trend des Interferenzmodells, die absoluten Werte sind jedoch deutlich kleiner (ca. 30-40 %). Des Weiteren wurde gezeigt, dass permanente Gasblasen durch die Laserpulse erzeugt werden, welche auf der Oberfläche des Titans sitzen. Treffen Folgepulse diese Gasblasen, so entstehen in den Blasen LIPSS mit den Eigenschaften wie in Luft. In Abwesenheit dieser Blasen können die Unterschiede in den LIPSS-Morphologien nicht auf bekannte Effekte, wie den Brechungsindex, zurückgeführt werden. Dadurch wird darauf geschlossen, dass weitere Aspekte in Betracht gezogen werden müssen, was weiterer Studien bedarf. Ein möglicher Ansatz könnte der folgende sein: Obwohl der Brechungsindex von Wasser und Methanol nahezu gleich

ist, aber kleiner als der von THF wurde dennoch bei gleicher Pulszahl und ähnlicher Fluenz (Fokusverschiebung durch den Brechungseffekt führt zu Strahldurchmessern von ca. 69,5 μm (Wasser), 68,8 μm (Methanol) und 80,6 μm (THF) und dadurch zu leicht unterschiedlichen Fluenzen) die LSFL-Bildungsschwelle in Wasser deutlich überschritten. Daher könnten auch die chemischen Eigenschaften der Flüssigkeit eine Rolle spielen. So konnten Ishikawa *et al.* zeigen, dass im Vergleich zu Wasser organische Lösungsmittel eine reduktivere Wirkung auf das Metall (beim Laser-Schmelzen von Fe_3O_4) haben. [213] Dem entgegengesetzt erzeugt Wasser oxidative Spezies. [214] Da auch schon Derrien *et al.* gezeigt haben, dass eine Oxidschicht einen Einfluss auf die Periode der LIPSS hat [163], scheinen die oxidativen Eigenschaften des Lösungsmittels bei der LIPSS-Bildung einen starken Einfluss zu haben.

Neben der Oberflächenstrukturierung von Metallen werden Laser auch zur Herstellung von Nanopartikeln verwendet. Diese lasergenerierten Nanopartikel stellen einen Hauptbestandteil dieser Arbeit dar und dienen in Verbindung mit Polymeren als Ionenfreisetzungssystem. Die Herstellung dieser Systeme stellt einen zentralen Aspekt dieser Arbeit dar, weshalb im Folgenden zunächst der Prozess des Laserabtrags in Hinblick auf verschiedene Einflussquellen näher untersucht wird.

6.2 Einflüsse auf die Ausbeute beim Laserabtrag in Flüssigkeiten

Die Möglichkeit der Regelung der Nanopartikelkonzentration in einem Nanokomposit ist für die Nutzung als Ionenfreisetzungssystem für verschiedene medizinische Anwendungen von großer Bedeutung. Um einen möglichst großen Konzentrationsbereich abdecken zu können, wird eine möglichst hohe Produktivität des Laserabtrags angestrebt. Wie bereits in Kapitel 2.3 dargestellt, wird dieser durch eine Vielzahl von Parametern beeinflusst, die im Folgenden in Laser- und Prozessparameter, wie die Repetitionsrate und Fokussierungsbrennweite, Materialparameter, wie dem verwendeten Fluid, und Fluidparameter, wie dem Volumenstrom, unterteilt werden.

Die in diesem Kapitel dargestellten Experimente wurden von Sandra Jendrzej, Insa Rapp, Matthias Lang und Ana Rosa de Lima im Rahmen von mir geplanten und betreuten Vertiefungsarbeiten, Analytikpraktika, bzw. Bachelorarbeit unterstützt.

6.2.1 Laser- und Prozessparameter

Die Laser- und Prozessparameter beeinflussen maßgeblich die Produktivität des Laserabtrags in Flüssigkeiten. Dazu gehören sowohl die Pulsdauer, Pulsenergie, Repetitionsrate als auch die Brennweite der verwendeten Fokussierungslinse, der Abstand zwischen Fokussierungslinse und Target und die eingestellte Flüssigkeitshöhe über dem Target. [1] [138] [150] [151] Im Folgenden wird das Augenmerk auf die Optimierung der Brennweite, Fokusposition, Flüssigkeitshöhe, Repetitionsrate und der Scangeometrie gelegt.

Beim Eintritt eines Laserstrahls in eine Flüssigkeit führt die Brechung des Strahls zur Verschiebung der Fokusposition in der Flüssigkeit im Vergleich zum Fokus in Luft. Würde diese Verschiebung ignoriert, so würde aufgrund der Fokusverschiebung der Durchmesser des Abtragspunktes auf der Targetoberfläche vergrößert, was eine Abnahme der Fluenz und somit eine Verringerung der Produktivität bedeutet. [148] Die Beeinflussung der Produktivität durch den Fokusabstand konnte bereits von mehreren Forschergruppen nachgewiesen werden. [138] [150] [151] [156] Der optimale Fokuspunkt in einer Flüssigkeit wurde über die Bestimmung der maximalen Produktivität in umfangreichen Versuchsreihen durchgeführt. [150] Da die Höhe der Flüssigkeit über dem Target ebenfalls einen Einfluss auf die Fokusverschiebung hat,

muss diese gleichzeitig mit dem Fokusabstand variiert und optimiert werden. [150] Diese intensiven Versuchsreihen wurden in vorherigen Studien bereits für eine Brennweite der Fokussierungslinse von $f = 100,1$ mm durchgeführt und ergaben für Wasser als Medium optimale Parameter von 3 mm Flüssigkeitshöhe und einer Verschiebung des Targets um 4,4 mm weg von der Fokusslinse. [215]

Nach der Beziehung zur Berechnung des fokussierten Strahldurchmessers (siehe Kapitel 6.1, Gleichung 11) ist ersichtlich, dass dieser linear von der Brennweite der verwendeten Linse abhängt. [203] Durch eine kürzere Brennweite wird der Strahldurchmesser auf der Targetoberfläche kleiner, was eine Erhöhung der Fluenz bedeutet und in einer erhöhten Produktivität resultiert. Aus diesem Grund wurde eine Parameteroptimierung für eine Brennweite von $f = 63$ mm in Wasser durchgeführt, um zu beurteilen, ob eine höhere Produktivität im Vergleich zu einer höheren Brennweite erzielt werden kann. Dabei wird die Fokusverschiebung Δz in Relation zum geometrischen Fokus in Luft angegeben. Je größer der Wert von Δz ist, desto größer ist die Verschiebung der Linse vom Target weg.

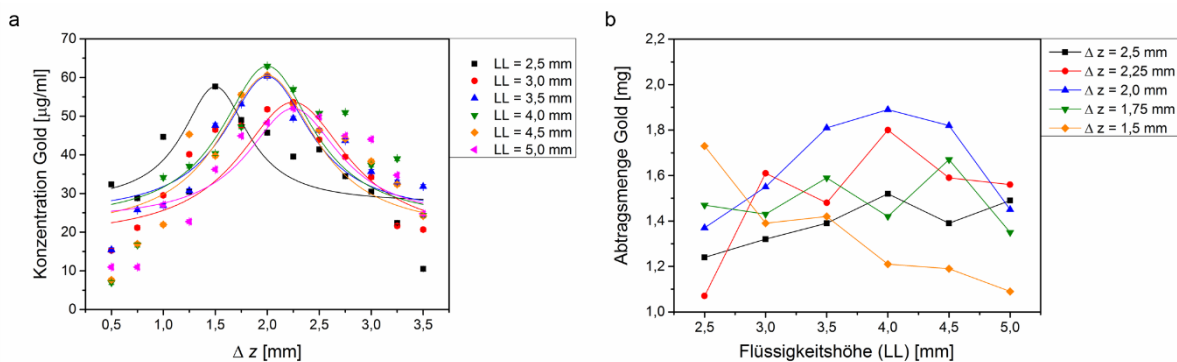


Abbildung 32: Die erreichte Goldkonzentration, berechnet aus UV/VIS-Spektren, in Abhängigkeit vom Fokusabstand (a) bei verschiedenen Flüssigkeitshöhen (LL). Gravimetrisch bestimmte Abtragsmenge in Abhängigkeit von der Flüssigkeitshöhe (LL) bei verschiedenen Fokusabständen (b). Verwendete Parameter: $f = 63$ mm, Repetitionsrate (RR) = 100 kHz, Spiraldurchmesser (d_s) = 3 mm, Abtragsdauer (t) = 90 s.

Es ist ersichtlich, dass bei einem Fokusabstand von $\Delta z = 2$ mm und Flüssigkeitshöhen von 3,5 mm, 4,0 mm und 4,5 mm die höchste Goldkonzentration vorliegt. Abbildung 32 b bestätigt den maximalen Abtrag von 1,81 mg bis 1,89 mg zwischen Flüssigkeitshöhen von 3,5 mm und 4,5 mm bei einem Fokusabstand von 2 mm. Eine weitere Variation der Höhe unter 2,5 mm konnte nicht umgesetzt werden, da in diesem Fall das Quarzglasfenster der Abtragskammer brach, wie auch schon von Sajti *et al.* berichtet wurde. [153] Die Daten aus Abbildung 32 zeigen auch, dass bereits eine

Abweichung vom optimalen Fokus von 1,5 mm eine Abnahme der Konzentration von bis zu 860 % bewirkt. Diese starken Auswirkungen wurden bereits von verschiedenen Forschergruppen beobachtet. [138] [150] [151] Auch der starke Einfluss der Flüssigkeitshöhe auf den Abtrag ist bereits belegt. Bei einer optimalen Flüssigkeitshöhe ist die Druckentwicklung durch das beim Laserabtrag entstehende Plasma maximal und führt dadurch zum maximalen Abtrag des Targets. [152]

Die theoretische Verschiebung der Fokusposition lässt sich über lineare Brechungsgesetze berechnen. Das Snelliussche Brechungsgesetz beschreibt den Zusammenhang zwischen einem einfallenden Lichtstrahl und dem gebrochenen Strahl beim Übergang aus einem Medium mit dem Brechungsindex n_1 in ein anderes Medium mit dem Brechungsindex n_2 . [149] Es gilt: [149]

$$n_1 * \sin(\varepsilon_1) = n_2 * \sin(\varepsilon_2) \quad \text{Gl. 23}$$

Dabei ist ε_1 der Einfallswinkel und ε_2 der Brechungswinkel des Strahls. [149]

Für eine Fokuslinse mit einer Brennweite von 63 mm können für verschiedene Flüssigkeitshöhen die in Tabelle 12 angegebenen Fokusverschiebungen berechnet werden. Auch hier gilt, dass je größer der Wert ist, desto größer ist die Verschiebung der Linse vom Target weg.

Tabelle 12: Berechnete lineare Fokusverschiebung für eine Brennweite von 63 mm bei verschiedenen Flüssigkeitshöhen.

Flüssigkeitshöhe [mm]	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0
lineare Verschiebung [mm]	1,85	2,16	2,47	2,51	2,58	2,88

Diese Ergebnisse stimmen gut mit den in Abbildung 32 gezeigten Verschiebungen überein, was zu dem Schluss führt, dass in diesem Experiment hauptsächlich lineare Effekte ursächlich für eine Fokusverschiebung sind. Diese Vermutung wird dadurch bestätigt, dass die in Abbildung 32 a dargestellten Konzentrationsverläufe sich gut durch einen Lorentz-Fit beschreiben lassen. Zu erkennende Abweichungen von den berechneten Werten können möglicherweise durch leichte nicht-lineare Effekte verursacht worden sein. Diese treten bei der Verwendung ultrakurzer Pulse beim Eintritt des Laserstrahls in eine Flüssigkeit auf, wenn die verwendete Pulsleistung über

einem bestimmten Grenzwert liegt. [1] Dieser lässt sich für jede Flüssigkeit über folgende Beziehung berechnen: [216] [217]

$$P_{\text{crit}} = \frac{3,72 \cdot \lambda^2}{8 \cdot \pi \cdot n_0 \cdot n_2} \quad \text{Gl. 24}$$

Für Wasser als Medium (mit $n_0 = 1,324$ [208] und $n_2 = 4,086 \cdot 10^{-20} \text{ m}^2/\text{W}$ [218] [219]) und einer Wellenlänge von 1064 nm ergibt sich eine kritische Leistung von etwa 3 MW. Bei dem hier verwendeten Lasersystem liegt die Pulsleistung von etwa 10 MW (hinter der Scaneinheit) deutlich oberhalb dieser Grenze. Daher lässt sich vermuten, dass in dem betrachteten System zusätzlich nicht-lineare Effekte, wie Selbstfokussierung und Filamentierung, auftreten. [1] Eine mögliche Beeinflussung des Brechungsindex der Flüssigkeit durch entstehende Nanopartikel könnte den Grenzwert der kritischen Leistung weiter senken und ebenfalls dazu führen, dass nicht-lineare Effekte auftreten. Eine Filamentierung führt jedoch auch zu einem Leistungsverlust, sodass eventuell selbstkompensierende Effekte auftreten und insgesamt lineare Effekte (Fokusverschiebung durch Brechung) dominant sind.

Nachdem der höchste Abtrag aus Abbildung 32 nur für eine Flüssigkeitshöhe von 3,5 mm reproduzierbar war (siehe Anhang, Abbildung 7), wird diese als optimale Höhe weiterverwendet. Formel 23 zeigt, dass die Fokusverschiebung vom Brechungsindex des Mediums abhängt und somit für jede Flüssigkeit eine Veränderung des optimalen Fokus vorliegt und jeweils neu bestimmt werden muss, um eine optimale Produktivität zu erhalten.

Nach der Bestimmung der optimalen Fokusbedingungen wurde der Einfluss der Abtragsdauer und der Repetitionsrate untersucht. Bei der Einstellung der Repetitionsrate wurden durch einen Pulsgenerator eine gewisse Anzahl an Pulsen (für 50 kHz jeder zweite, für 33 kHz jeder dritte Puls usw.) verwendet und der Rest ausgeblendet. Dadurch sank jeweils die mittlere Pulsleistung und die Pulsenergie blieb konstant.

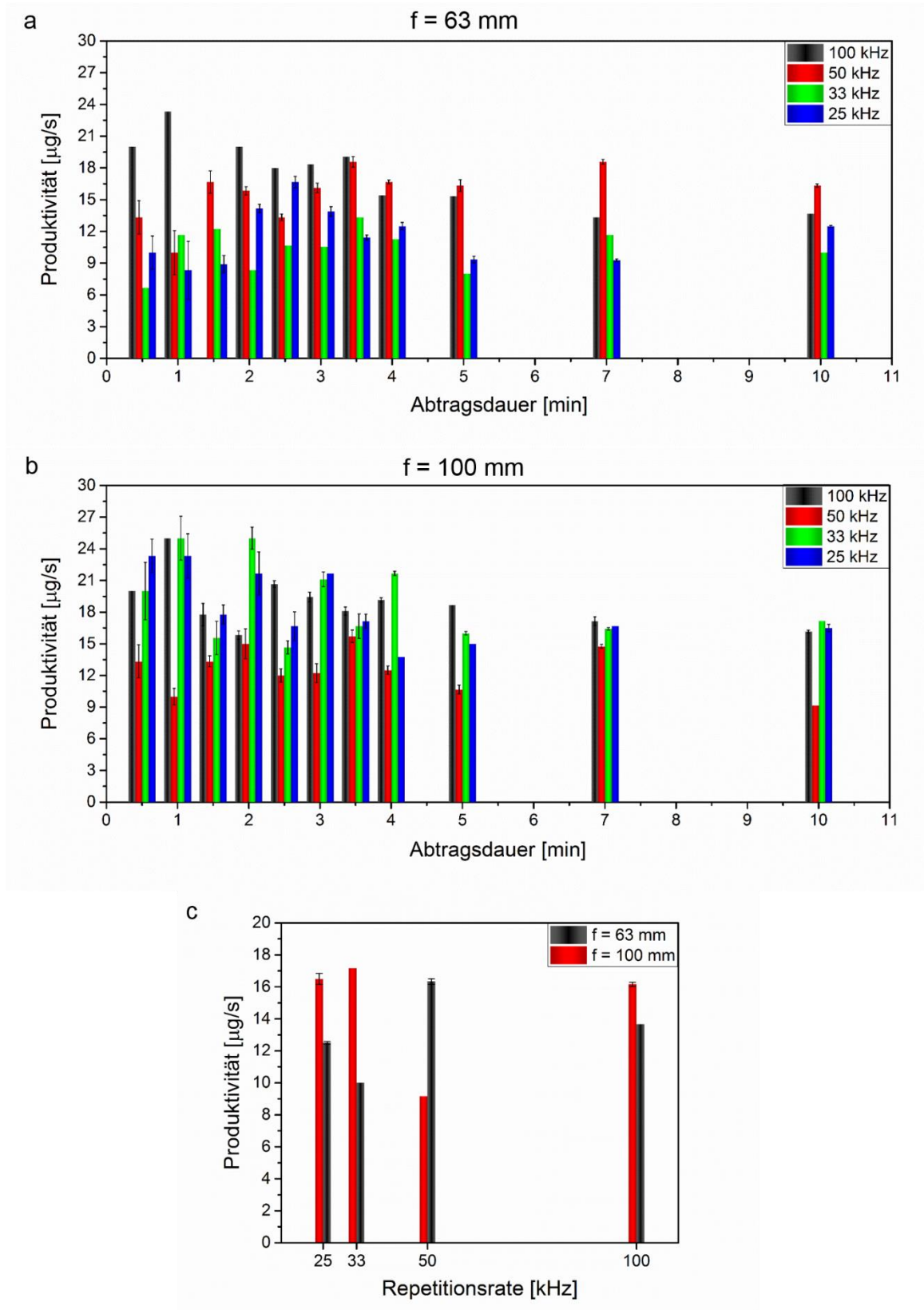


Abbildung 33: Produktivität beim Abtrag von Gold in Wasser für die Brennweiten $f = 63 \text{ mm}$ (a) und $f = 100,1 \text{ mm}$ (b) in Abhängigkeit von der Abtragsdauer (a, b) und der Repetitionsrate bei einer Abtragsdauer von 10 min (c) bei den optimalen Prozessparametern. Verwendete Parameter: $f = 63 \text{ mm}$, $LL = 3,5 \text{ mm}$, $\Delta z = 2,0 \text{ mm}$, $d_s = 5 \text{ mm}$ (a, c); $f = 100,1 \text{ mm}$, $LL = 3 \text{ mm}$, $\Delta z = 4,4 \text{ mm}$, $d_s = 6,0 \text{ mm}$ (b, c).

Auch wenn die Verläufe stark schwanken, so zeigen die Graphen in Abbildung 33, dass die Abtragsraten der größeren Brennweite, mit Ausnahme von 50 kHz, immer höher sind als die der geringeren Brennweite. Des Weiteren nimmt die Produktivität mit zunehmender Abtragsdauer ab, was durch die Abschwächung der Laserintensität durch die in der Lösung befindlichen Nanopartikel und Blasen erklärt werden kann. Durch die Partikel und Blasen wird die Laserstrahlung absorbiert und gestreut, wodurch eine geringere Intensität die Targetoberfläche erreicht und zum Abtrag führt. Die Variation der Repetitionsrate beruht auf der Annahme, dass die Interaktion von Kavitationsblasen und Laserpulsen zeitlich umgangen werden kann. Je geringer die Repetitionsrate, desto größer wird der zeitliche Abstand zwischen zwei aufeinander folgenden Pulsen. Wie bei Wagener *et al.* gezeigt wurde, ist ein linearer Anstieg der Produktivität mit zunehmender Repetitionsrate zu erwarten, da die Kavitationsblase zeitlich umgangen wird. Der lineare Anstieg sollte daraufhin in einem Sättigungsbereich münden, wenn die Lebensdauer der Kavitationsblase größer ist als der zeitliche Interpulsabstand. Wagener *et al.* definierten diesen Umschlagspunkt für ein Lasersystem ähnlich wie das hier verwendete bei 5 kHz, und errechnete daraus eine Lebensdauer der Kavitationsblase von 55 μs . [138] In dem hier gezeigten Experiment sind nur Repetitionsraten von ≥ 25 kHz verwendet worden. Ein linearer Anstieg der Produktivität ist daher nicht, wie in der Literatur beschrieben, vorzufinden (vgl. Abb. 33 c), da die Kavitationsblase nicht zeitlich umgangen wird.

Neben einer zeitlichen Umgehung der Kavitationsblase kann diese auch räumlich umgangen werden, indem ein Scannersystem mit genügend hoher Scangeschwindigkeit verwendet wird, wie von Streubel *et al.* gezeigt wurde. In diesem Fall nimmt die Produktivität mit Erhöhung der Repetitionsrate zu. [148] Bei einer hier eingestellten Scangeschwindigkeit von 6 m/s und der Abschätzung der Größe der Kavitationsblase von etwa 60 μm (Radius) nach Streubel *et al.* [148] werden für die verwendeten Repetitionsraten laterale Interpulsabstände von 240 μm (25 kHz), 182 μm (33 kHz), 120 μm (50 kHz) und 60 μm (100 kHz) berechnet. Unter Einbeziehung des Fehlers, dass die nominelle Scangeschwindigkeit größer ist als die reale Scangeschwindigkeit (interne Untersuchungen zeigten $v_{\text{max,real}} \approx 5$ m/s) und der lediglich geschätzten Kavitationsblasengröße kann nur für Repetitionsraten ≤ 50 kHz eine laterale Umgehung der Kavitationsblase mit diesem Scansystem erreicht werden. Der höchste Abtrag wurde dementsprechend bei einer Brennweite von 63 mm bei einer Repetitionsrate von 50 kHz und für eine Brennweite von 100,1 mm von 25 kHz,

33 kHz und 100 kHz erreicht. Die starke Abnahme der Produktivität bei der Brennweite von 100,1 mm, die lediglich bei 50 kHz auftritt, wurde von Zhang *et al.* auf die Interaktion eines Laserpulses mit der Kavitationsblase des vorherigen Laserpulses zurückgeführt. Dabei ist es ausschlaggebend, dass der Puls so auf den äußeren Bereich der Kavitationsblase auftrifft, dass er reflektiert und gebrochen wird und zu einem eher „zufälligen“ Abtrag führt. [212] Bei einer Brennweite von 63 mm ist diese Produktivitätsabnahme bei 33 kHz zu erkennen. Dies könnte auf eine veränderte Kavitationsblasendynamik zurückgeführt werden.

Durch die starken Schwankungen der Messwerte in Abbildung 33 a und b wurde daraufhin der Punkt gesucht, ab dem ein stabiler Abtrag gewährleistet ist.

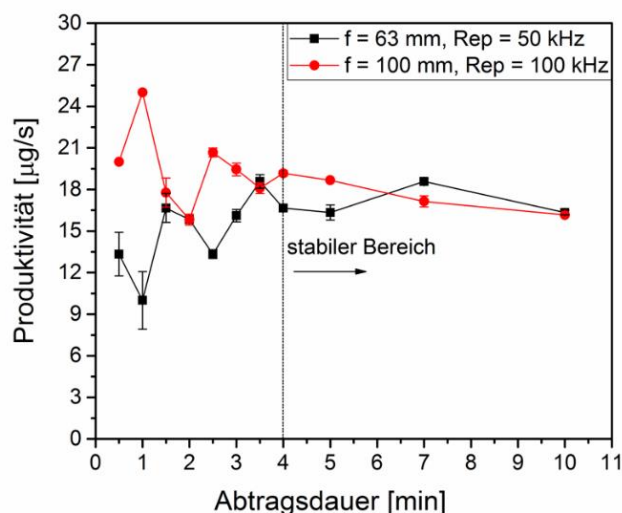


Abbildung 34: Produktivität beim Abtrag von Gold in Wasser bei den optimalen Repetitionsraten. Bestimmung des stabilen Abtragspunktes. Verwendete Parameter: $f = 63$ mm, $LL = 3,5$ mm, $\Delta z = 2,0$ mm, $d_s = 5$ mm;
 $f = 100,1$ mm, $LL = 3,0$ mm, $\Delta z = 4,4$ mm, $d_s = 6$ mm.

Zwischen einer Abtragsdauer von 30 s und 4 min zeigt die Produktivität starke Schwankungen. Erst ab 4 min nehmen diese Schwankungen ab und zeigen einen stabilen Produktivitätsbereich von etwa $17,2 \mu\text{g/s}$ ($f = 63$ mm) und $17,8 \mu\text{g/s}$ ($f = 100,1$ mm) (vgl. Abb. 34). Verschiedene Studien zeigten einen linearen Anstieg der abgetragenen Masse mit zunehmender Abtragsdauer, was einer konstanten Produktivität entspricht. [138] [148] [155] Eine konstante Produktivität kann in Abbildung 34 erst ab einer Abtragsdauer von 4 min beobachtet werden. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass für die Nanopartikelproduktion eine Abtragsdauer von mehr als 4 min gewählt werden sollte, um einen stabilen und reproduzierbaren Prozess zu erhalten.

Ein weiterer Versuch die Produktivität noch weiter zu erhöhen liegt in der Variation der Scangeometrie. Es wurden eine Spirale und ein Rechteck gewählt und der Durchmesser bzw. die Kantenlänge variiert. Für die Brennweite von 100,1 mm wurde ein Spiraldurchmesser von 6 mm als optimale Geometrie aus vorherigen Studien übernommen.

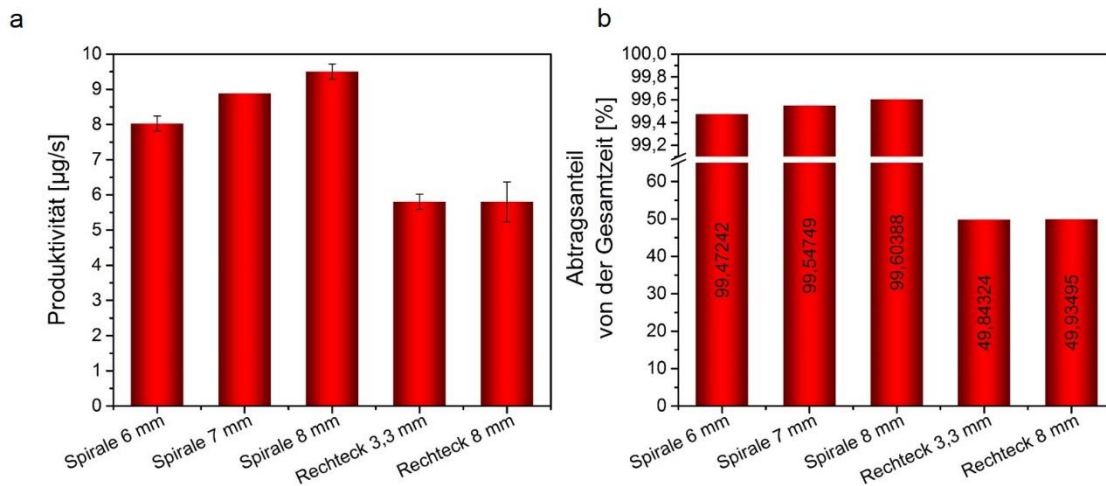


Abbildung 35: Produktivitätsoptimierung durch Variation der Scangeometrie (a) und Bestimmung der Bestrahlungseffizienz durch Angabe der realen Abtragszeit als Anteil der Gesamtzeit t (b). Verwendete Parameter: $f = 100,1 \text{ mm}$, $t = 270 \text{ s}$, $RR = 100 \text{ kHz}$.

Die Erhöhung des Spiraldurchmessers führt zu einer Zunahme der Produktivität, wohingegen die Vergrößerung des Rechtecks die Produktivität nicht beeinflusst (vgl. Abb. 35 a). Es konnten Produktivitäten von 9,5 $\mu\text{g/s}$ (Spirale, 8 mm) und 5,8 $\mu\text{g/s}$ (Rechteck) erreicht werden. Ein Erklärungsansatz dieser Ergebnisse erfolgt anhand der Illustration in Abbildung 36. Dabei sei darauf hingewiesen, dass sowohl die Sprunggeschwindigkeit als auch die Markiergeschwindigkeit in allen Versuchen identisch ist.

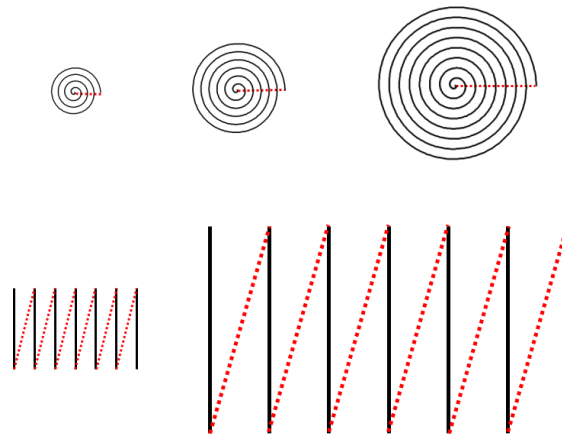


Abbildung 36: Schematische Darstellung der verwendeten Scangeometrien. Die schwarzen, durchgezogenen Linien stellen die gescannte Fläche dar, die roten, gestrichelten Linien sind die Strecken, die vom Scanner „Übersprungen“ werden.

Der fundamentale Unterschied zwischen der Spirale und dem Rechteck ist die Dauer, die der Laser aufgrund der Sprünge (markiert in rot) ausgeschaltet ist. Diese ist im Falle des Rechtecks wesentlich größer, da nach jeder einzelnen Linie der Laser ausgeschaltet wird, was durch die in Abbildung 35 b gezeigten Werte untermauert wird. Unter Verwendung der Spiralgeometrie wird der Laserstrahl zu mehr als 99 % der Zeit auf dem Target geführt, und ist nur für weniger als 1 % für Sprünge ausgeschaltet. Im Falle des Rechtecks beträgt der Anteil der Sprungzeit mehr als 50 % der Gesamtzeit. Daher ist bei gleicher Abtragsdauer die Produktivität der Spiralen immer größer als die des Rechtecks. Reduziert man die Größe des Rechtecks, so ändert man nicht die Anzahl der Sprünge und damit ändert sich auch nicht die Produktivität im Vergleich zum größeren Rechteck. Bei der Spirale wird mit Reduzierung der Größe die Anzahl der Sprünge erhöht, da die Anzahl an Spiralkreisen geringer wird und der Scanner öfter wieder an den Anfang springen muss. Gleichzeitig verlängert sich aber auch die Sprungdistanz mit zunehmendem Spiraldurchmesser. Die Berechnung der Fläche, die nach 270 s vom Laser bestrahlt wurde, ergibt im Falle des Rechtecks $229,08 \text{ cm}^2$ ($3,3 \times 3,3 \text{ mm}$) bzw. $229,84 \text{ cm}^2$ ($8 \times 8 \text{ mm}$) und für die Spirale $682,88 \text{ cm}^2$ (6 mm), $683,88 \text{ cm}^2$ (7 mm) bzw. $684,69 \text{ cm}^2$ (8 mm). Dies zeigt erneut, dass die Spirale zu einer höheren Produktivität im Vergleich zum Rechteck führen muss. Des Weiteren zeigt es aber auch, dass die bestrahlte Fläche bei größer werdendem Spiraldurchmesser nicht in dem Maße zunimmt, sodass es die erhöhte Produktivität aus Abbildung 35 a erklären könnte. Eine mögliche Erklärung könnte in der Abtragtiefe liegen. Durch die größere Anzahl an Spiraldurchläufen bei kleinerem Durchmesser entstehen tiefere Rillen auf dem Target, die mit zunehmender

Abtragsdauer dazu führen können, dass nicht mehr im optimalen Fokus gearbeitet wird und dadurch die Produktivität abnimmt. Bei größeren Spiraldurchmessern ist dieser Effekt nicht so stark ausgeprägt und führt zu höheren Abtragsraten.

Zusammenfassend konnte entgegen der Annahme, dass durch eine geringere Brennweite von 63 mm eine Produktivitätszunahme erzielt werden kann, keine Verbesserung des Abtrags im Vergleich zu einer Brennweite von 100,1 mm erreicht werden. Stärkere Defokussierungseffekte an der Luft-Wasser-Grenzfläche bei höheren Brennweiten kompensieren den Effekt der aufgrund höherer Fluenzen erwarteten Abtragssteigerung an Luft für höhere Brennweiten. Des Weiteren wurde die Abhängigkeit der Produktivität von der Schangeometrie gezeigt. Die maximale Produktivität von $17,8 \mu\text{g/s}$ wurde mit der 100,1 mm Fokuslinse, einem Spiraldurchmesser von 6 mm und einer Repetitionsrate von 100 kHz erreicht.

6.2.2 Materialparameter

Neben den im vorausgehenden Kapitel diskutierten Laser- und Prozessparametern haben auch die Eigenschaften der Flüssigkeit einen starken Einfluss auf den Laserabtrag. Wie bereits erwähnt beeinflusst der Brechungsindex die optimale Fokusposition. Beim Übergang des Laserstrahls in die Flüssigkeit wird dieser umso stärker gebrochen je höher der Brechungsindex der Flüssigkeit ist. Im Folgenden wurde zunächst die Abtragseffizienz von Gold in den drei verschiedenen Flüssigkeiten, Wasser ($n_D = 1,3333$ [220]), Aceton ($n_D = 1,3575$ [220]) und Ethylenglykol/Wasser (2:1 v/v) ($n_D = 1,4025$ (Messwert)) untersucht.

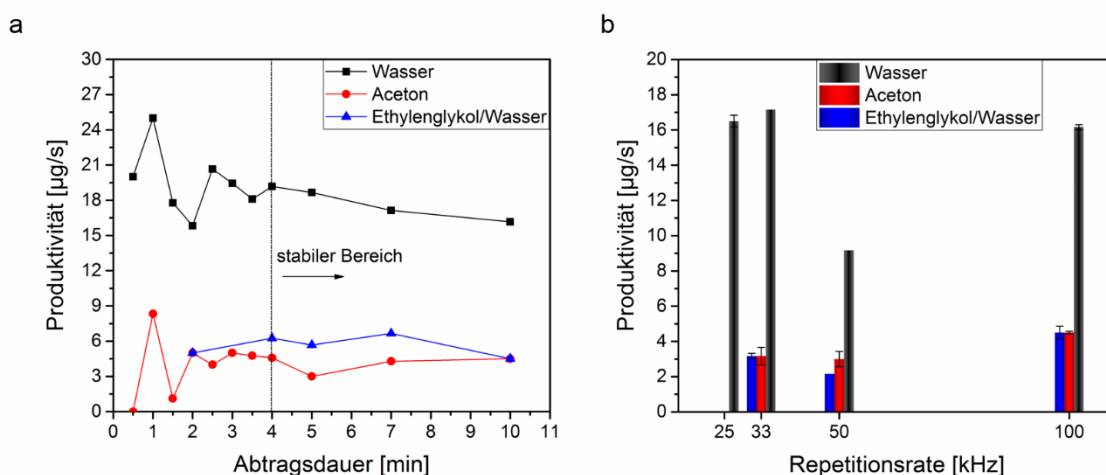


Abbildung 37: Produktivität beim Abtrag von Gold in unterschiedlichen Flüssigkeiten in Abhängigkeit von der Abtragsdauer (a) und der Repetitionsrate (b). Verwendete Parameter: $f = 100,1 \text{ mm}$, $RR = 100 \text{ kHz}$, $d_s = 6,0 \text{ mm}$.

Der Abtrag in Wasser führt zur höchsten Abtragsrate (vgl. Abb. 37), welche rund 2,7-fach höher ist als bei den alternativen Flüssigkeiten. Die Abnahme der Produktivität kann möglicherweise auf die Zunahme der Viskosität der Flüssigkeiten von Wasser zu Ethylenglykol (η (Wasser, 25°C) = 0,89 mPa*s [in [221], η (reines Ethylenglykol, 25°C) = 16,1 mPa*s [222]) zurückgeführt werden. So wurde bereits von Baladi *et al.* und Kalus *et al.* eine Abhängigkeit der Produktivität von der Viskosität der Flüssigkeit beobachtet. [160] [210] Der niedrige Abtrag in Aceton kann hingegen nicht auf die Viskosität zurückgeführt werden, da die Viskosität von Aceton (η (Aceton, 25°C) = 0,31 mPa*s [222]) niedriger ist als von Wasser. Die niedrige Siedetemperatur und Verdampfungswärme von Aceton (56 °C, 29,1 kJ/mol [223]) im Vergleich zu Wasser (100 °C, 40,7 kJ/mol [223]) kann aber zu einer verstärkten Blasenbildung führen, was in einer Reduzierung der Produktivität resultiert. [212] Dies gilt insbesondere bei den hier verwendeten hohen Repetitionsraten von 100 kHz mit temporalen Interpulsabständen, die wesentlich geringer sind als die Lebensdauer dieser Blasen. Es kann erneut bestätigt werden, dass eine stabile Produktivität erst ab einer Abtragsdauer von 4 min erhalten wird. Betrachtet man die Abhängigkeit der Produktivität von der Repetitionsrate, so ist kein klarer Trend zu beobachten. Lediglich die Repetitionsrate von 50 kHz weicht stark von den anderen Werten ab. Auch hier kann, wie bereits in Kapitel 6.2.1 dargestellt, auf die unterschiedliche Interaktion der Laserpulse mit den entstehenden Kavitationsblasen geschlossen werden. [212]

Verwendet man statt reine Lösungsmittel Monomerlösungen, die während des Laserabtrags polymerisieren, so tritt ein zusätzlicher Effekt auf. Wie in Abbildung 38 a zu sehen ist, tritt durch die Polymerisation der Monomere eine Trübung der Lösung ein. Je nach Konzentration der Monomerkomponente VCL ist diese Trübung schwächer oder stärker ausgeprägt. Angegeben ist hier nur die Konzentration an VCL, jedoch enthalten die hier gezeigten Proben ebenfalls das Comonomer AAEM und den Vernetzer BIS, in den im Experimentalteil geschilderten Verhältnissen.

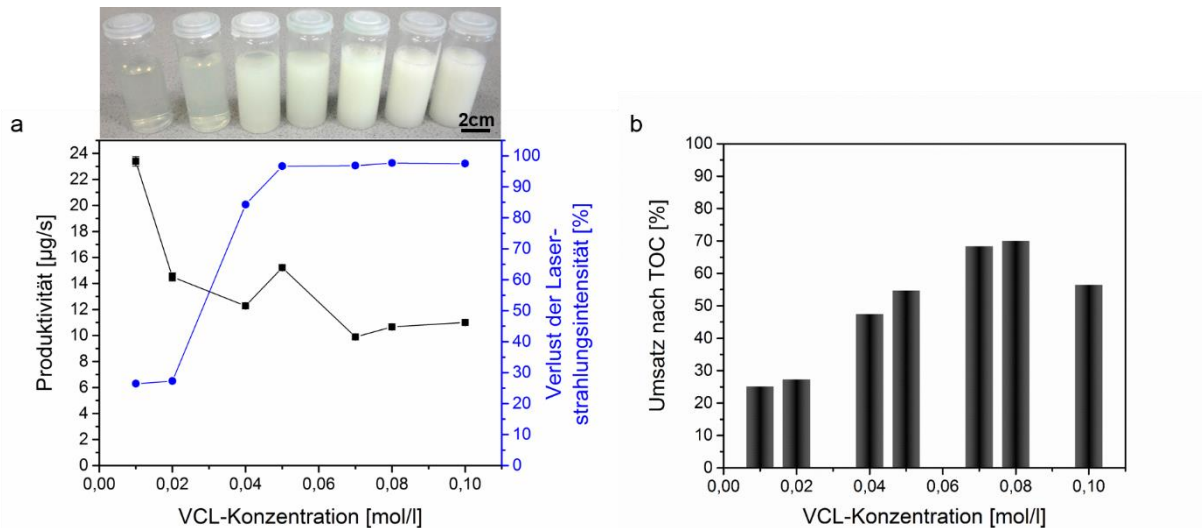


Abbildung 38: Produktivität beim Abtrag von Zink in VCL/AAEM und der aus der Polymerisation resultierende Intensitätsverlust der Laserstrahlung in Abhängigkeit von der eingesetzten VCL-Konzentration (a). [199]²⁹ Das Foto in a zeigt die zu den Datenpunkten gehörigen Proben. Für jede Konzentration wurde der entsprechende Umsatz mittels Total organic carbon (TOC)-Analyse jeweils in Dreifachbestimmung ermittelt (b).

Die Trübung der Proben wurde initiiert durch den hinzugegebenen Radikalstarter AMPA. [105] Je höher die Monomerkonzentration ist, desto größer werden die Polymerpartikel (siehe Kapitel 6.4), die die optische Dichte der Flüssigkeit während dem Abtrag erhöhen. Je höher die optische Dichte ist, desto stärker wird der Laserstrahl absorbiert und gestreut. Daraus resultiert eine Abnahme der am Target ankommenden Intensität der Laserstrahlung. Um diese Abnahme zu quantifizieren, wurde die Probe in eine Küvette gefüllt und die Leistung der Strahlung vor und nach der Küvette gemessen. Die daraus berechneten Intensitätsverluste sind in Abbildung 38 a dargestellt. Deutlich zu erkennen ist der stärkste Anstieg der Trübung und damit des Intensitätsverlustes zwischen 0,02 mol/l und 0,04 mol/l. Dadurch fällt in diesem Bereich auch die Produktivität von ursprünglich 23,4 µg/s (0,01 mol/l) auf 12,2 µg/s (0,04 mol/l) ab. Bei einer weiteren Erhöhung der VCL-Konzentration steigt der Intensitätsverlust bis auf über 97 % an. Das heißt, dass die Polymerpartikel Licht mit der Wellenlänge des Laserstrahls streuen und im Bereich hoher Monomerkonzentration so gut wie keine Strahlung mehr am Target ankommt und eigentlich kein Abtrag zu erwarten wäre. [199]²⁹ Es ist hierbei zu erwähnen, dass die Messung des Intensitätsverlustes am Ende der Polymerisation stattfand. Zu Beginn des Abtrags ist die Trübung der Lösung nicht so intensiv, wodurch auch hier ein Abtrag stattfand. Die

²⁹ Water-based, surfactant-free cytocompatible nanoparticle-microgel-composite biomaterials – rational design by laser synthesis, processing into fiber pads and impact on cell proliferation, *BioNanoMaterials*, 18(3-4), 2017. <http://dx.doi.org/10.1515/bnm-2017-0004>.

Trübung der Lösung durch die Polymerisation wird durch die Messung des Umsatzes der Monomere untermauert, welcher ebenfalls mit steigender VCL-Konzentration zunimmt (vgl. Abb. 38 b). Zur Bestimmung wurde die Monomerlösung vor dem Abtrag und der Überstand der Lösung nach dem Abtrag nach der Zentrifugation bei 14.000 Umdrehungen (30 min) mittels TOC-Analyse untersucht. Dadurch konnte das Polymer vom verbleibenden Monomer separiert werden. In Abbildung 38 b ist ein Abfall des Umsatzes bei einer Monomerkonzentration von 0,1 mol/l zu erkennen. Dieser Wert wird auf einen Messfehler zurückgeführt, der jedoch nicht genauer benannt werden kann. Auch können die Fehler der Dreifachmessungen nicht bestimmt werden, da vom Messgerät lediglich der Mittelwert ohne Abweichung angegeben wird. Daher sind die exakten Werte dieser Messungen kritisch zu betrachten. Es muss festgestellt werden, dass ein Abtrag, der länger als etwa drei Minuten dauert, nicht mehr effizient ist, da nach eigenen Beobachtungen dann die Trübung bereits ausgebildet ist. Dies steht im Konflikt zu den in Abbildung 34 dargestellten Ergebnissen, wonach eine stabile Produktivität erst nach 4 min erzielt wird. Daher kann bei der Verwendung von polymerisierenden Monomerlösungen eine stabile Reproduzierbarkeit beim Abtrag nicht zwangsläufig erwartet werden. Zukünftig kann mit höheren Laserleistungen bzw. Pulsenergien auf kürzere Abtragsdauern zurückgegriffen werden, um eine vergleichbare Produktivität zu erreichen. Mit modernen Hochleistungs-Pikosekunden-Lasersystemen, welche während der Durchführung der vorliegenden Arbeit noch nicht verfügbar waren, konnten höhere Produktivitäten von mehreren Gramm Nanopartikel pro Stunde erreicht werden. [147] [148]

6.2.3 Fluidparameter

Mit den in Kapitel 6.2.2 gezeigten Ergebnissen ist ersichtlich, dass bei der Verwendung von Monomer- bzw. Polymerlösungen die Nanopartikel-Produktivität allein durch die Eigenschaften der Flüssigkeit stark gemindert wird, bzw. Probleme hinsichtlich der Reproduzierbarkeit zu erwarten sind. Eine Möglichkeit diese Minderung zu umgehen könnte in der Veränderung der Fluidförderung durch Modifikation der verwendeten Abtragskammer liegen.

Der zunächst potenziell naheliegende Parameter zur Verlangsamung der Polymerisation ist die Betriebstemperatur der Lösung. Daher wurde die Produktivität

in der Batch-Kammer bei einer Reduzierung der Temperatur auf Raumtemperatur (RT) im Vergleich zu 80 °C, der Temperatur zur Polymerisation, untersucht.

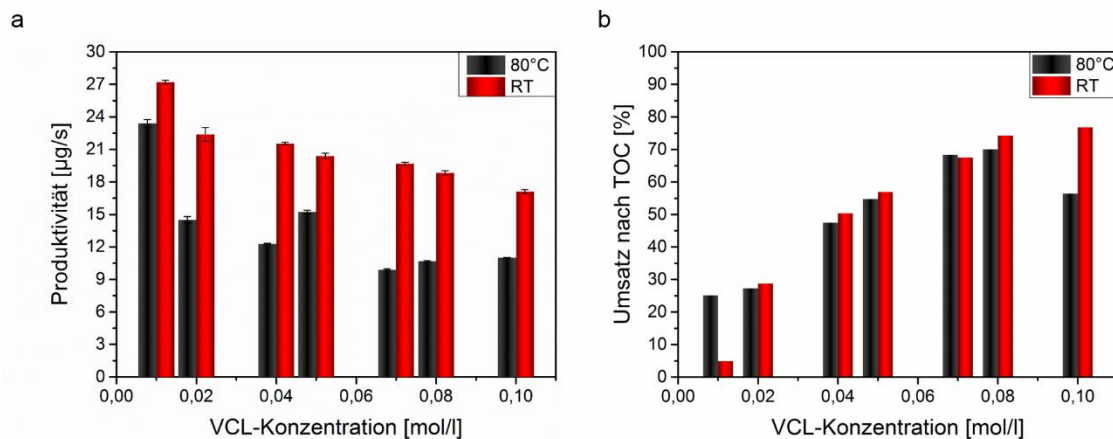


Abbildung 39: Produktivität beim Abtrag von Zink in der Batch-Kammer bei der Herstellung von PVCL/AAEM-Mikrogelen in Abhängigkeit von der verwendeten VCL-Konzentration und der Betriebstemperatur (80 °C und Raumtemperatur) (a). Der dabei erreichte Umsatz wurde durch TOC-Messungen ermittelt (b).

In beiden Fällen ist, wie bereits gezeigt, eine Abnahme der Produktivität mit zunehmender VCL-Konzentration zu sehen (vgl. Abb. 39 a), wobei bei 80 °C Betriebstemperatur die Produktivität insgesamt niedriger ausfällt. Bei Raumtemperatur wird die Polymerbildung zunächst in geringem Maße durch die Nanopartikel, wie auch von van't Zand *et al.* gezeigt, verursacht [224], während die restliche Polymerisation erst nach dem Abtrag durch die Zuführung von Hitze erfolgt. Der resultierende Umsatz wird dadurch nicht beeinflusst (vgl. Abb. 39 b), da alle Proben insgesamt über die gleiche Dauer beheizt wurden. Visuelle Beobachtungen zeigten jedoch, dass beim Abtrag bei Raumtemperatur die Nanopartikel bereits zum Teil ausgefallen waren und nicht mehr in die Polymermatrix eingebunden wurden. Aus diesem Versuch ist ersichtlich, dass ein Abtrag bereits in der Hitze (80 °C) erforderlich ist, um die Partikel stabil im Polymer einzubetten. Daher wird im Weiteren, falls nicht abweichend gekennzeichnet, immer bei einer Temperatur von 80 °C gearbeitet.

Eine zweite Überlegung besteht darin, die beladene Polymerlösung aus der Batch-Kammer abzuführen und neue Monomerlösung zuzuführen, um eine kontinuierliche Kompositproduktion zu erhalten und Trübungserscheinungen während des Abtrags minimal zu halten. Dazu wurde der Fed-Batch-Aufbau bzw. der kontinuierliche Betrieb gewählt. Er besteht, wie in Abbildung 40 a schematisch dargestellt, aus der Batch-Kammer, deren Deckel mit Bohrungen versehen ist. Diese dienen dazu über Pumpen und Schlauchleitungen die Polymerlösung ab- und Monomerlösung zuzuführen

(kontinuierlicher Betrieb), bzw. nur frische Monomerlösung hinzuzugeben ohne Lösung zu entnehmen (Fed-Batch-Betrieb).

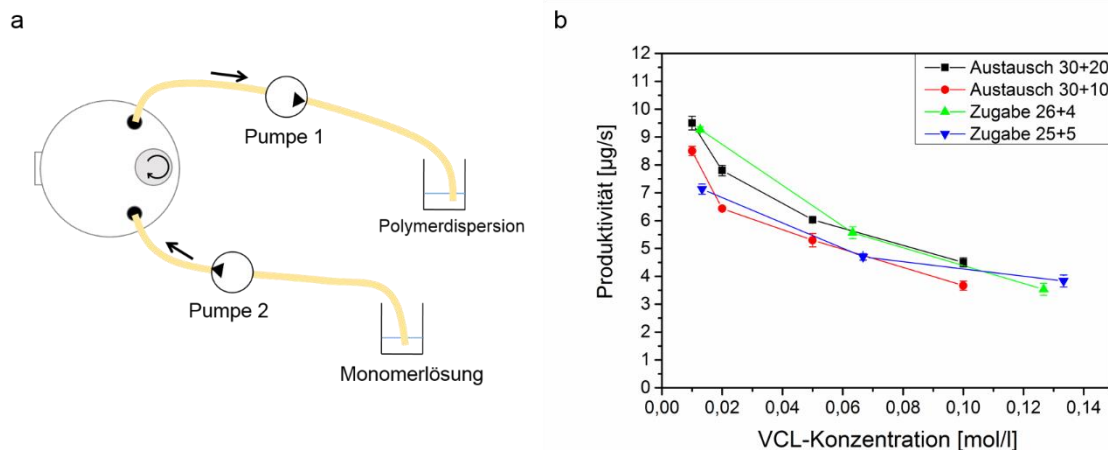


Abbildung 40: Schema des Fed-Batch-Aufbaus bzw. des kontinuierlichen Betriebs (a), bestehend aus der Batch-Abtragskammer, zwei Pumpensystemen, einem Vorratsbehälter und einem Sammelbehälter für die resultierende Polymerdispersion. Untersuchung der Produktivität an Gold-Nanopartikeln bei verschiedenen Fed-Batch bzw. kontinuierlichen Fahrweisen in Abhängigkeit von der eingesetzten VCL-Konzentration (b).

In die Abtragskammer wurde die Monomerlösung, bestehend aus VCL (unterschiedlicher Konzentration), AAEM, BIS und AMPA, eines bestimmten Volumens (30 ml, 26 ml bzw. 25 ml) vorgelegt. Davon wurden entweder 10, bzw. 20 ml des Volumens durch neue Monomerlösung ausgetauscht oder lediglich mit 4 bzw. 5 ml Monomerlösung aufgefüllt. Ein größeres Volumen konnte nicht realisiert werden, da die Kammer zu jedem Zeitpunkt des Abtrags mindestens so weit gefüllt sein musste, dass das Target nicht in Luft abgetragen wurde. Man erkennt erneut einen Produktivitätsabfall von etwa 55 % mit steigender VCL-Konzentration (vgl. Abb. 40 b), wobei zwischen den einzelnen Betriebsweisen kein signifikanter Unterschied beobachtet werden kann.

Ein kontinuierlicher Betrieb kann technisch besser über die Verwendung einer Durchflussskammer realisiert werden, wobei die Flüssigkeit kontinuierlich durch die Kammer am Target vorbeigeführt wird und dadurch die Trübung durch die Polymerisation abgeführt werden kann. Dabei stellt der eingestellte Volumenstrom einen Parameter dar, der einen starken Einfluss auf die Produktivität hat. In früheren Arbeiten konnte festgestellt werden, dass die Produktivität mit zunehmendem Volumenstrom steigt [225] [226], da durch den Flüssigkeitsstrom die Abtragsprodukte (Nanopartikel), Gasblasen [153] [156] und in dem hier gezeigten Fall auch das gebildete Polymer abtransportiert werden. Somit findet eine Interaktion der Laserpulse

mit diesen Produkten für eine wesentlich geringere Zeitspanne statt als in einer Batch-Kammer.

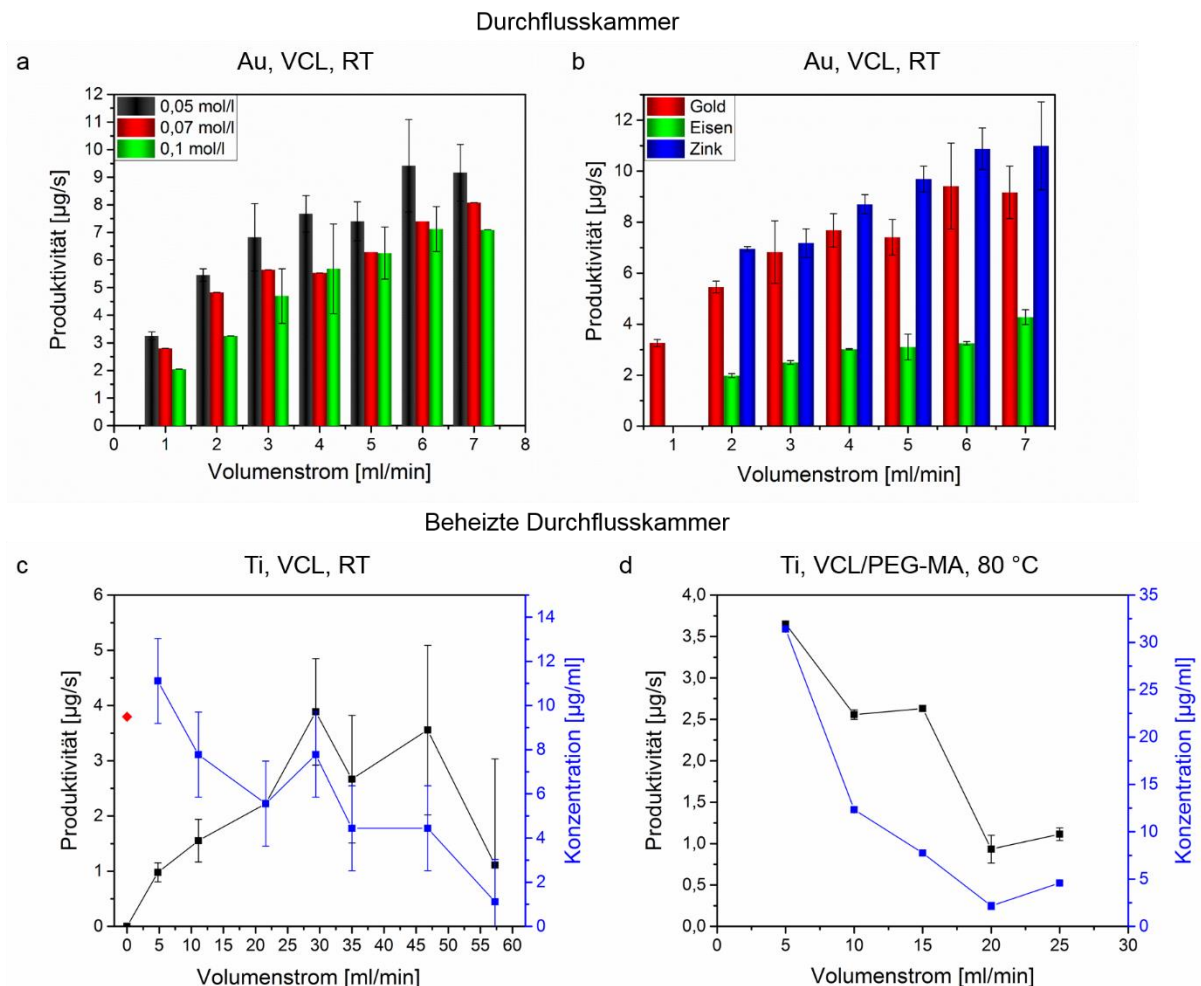


Abbildung 41: Produktivität bei dem Abtrag von Gold in VCL unterschiedlicher Konzentration (a) und verschiedener Elemente in 0,05 mol/l VCL (b) in einer Durchflussskammer bei Raumtemperatur in Abhängigkeit vom Volumenstrom. Produktivität bei dem Abtrag von Titan in 0,1 mol/l VCL in einer beheizten Durchflussskammer bei Raumtemperatur (c) und in VCL/PEG-MA bei 80 °C (d) in Abhängigkeit vom Volumenstrom. Der rote Datenpunkt in c zeigt die Produktivität in der Batch-Kammer.

Die Daten belegen, dass mit zunehmendem Volumenstrom die Produktivität in der Durchflussskammer und der beheizten Durchflussskammer bei Raumtemperatur zunimmt (vgl. Abb. 41 a, b und c), da hier die Trübung der Lösung durch den Abtransport abnimmt. Da in der Durchflussskammer die Flüssigkeit stetig erneuert wird, nimmt in der Summe die Konzentration der Nanopartikel in der Flüssigkeit mit steigendem Volumenstrom ab (vgl. Abb. 41 c), wie auch von anderen Arbeitsgruppen belegt. [148] [153] Die Unterschiede in der Produktivität verschiedener Elemente (vgl. Abb. 41 b) muss auf eine Kombination von Einflussparametern zurückgeführt werden. Diese bestehen aus den spezifischen Materialeigenschaften, wie z.B. der

thermischen Leitfähigkeit und der Wärmekapazität, Prozessparametern sowie den Interaktionen zwischen Laser, Material und der umgebenden Flüssigkeit. [138] [147] [148]

Im Falle der Verwendung der beheizten Durchflussskammer bei 80 °C (vgl. Abb. 41 d) tritt eine Abnahme der Produktivität aufgrund der Trübung der Polymerlösung auf, auch wenn der Volumenstrom erhöht wird. Wie bereits zu Beginn dieses Kapitels gezeigt wurde, muss eine Betriebstemperatur von 80 °C genutzt werden, um die Nanopartikel vollständig im Polymer zu binden. Die maximale Produktivität bei der beheizten Durchflussskammer lag bei 3,6 µg/s Titan bei einem Volumenstrom von 5 ml/min (vgl. Abb. 41 d). Dies bedeutet, dass bei der Herstellung von einem Liter Kolloid 43,2 mg Nanopartikel enthalten wären und die Produktionszeit 3 Stunden 20 min betragen würde. Unter Verwendung einer Batch-Kammer mit 20 ml Fassungsvermögen wären im Vergleich dazu 50 Ansätze mit jeweils rund 0,86 mg Titan-Nanopartikeln nötig. Unter Annahme einer Produktivität von 3,8 µg/s ergibt das eine Produktionszeit von 3 Stunden 9 min. Schlussfolgernd kann ausgesagt werden, dass für große Mengen an Kolloid (Liter) der Aufbau einer beheizten Durchflussskammer zu bevorzugen ist, da die Batch-Kammer eine zu große Anzahl von manuellen Befüllungen und Entleerungen benötigen würde. Bei geringen Mengen an Kolloid sollte jedoch die Batch-Kammer gewählt werden, da dort die Konzentration an Nanopartikeln schneller erreicht werden kann. Da in der weiteren Arbeit vergleichsweise geringe Mengen an Kolloid für die jeweiligen Experimente benötigt wurden, wurde auf die Batch-Kammer zurückgegriffen.

Abschließend lässt sich zusammenfassen, dass für eine optimale Produktivität eine Fokuslinse von 100,1 mm, eine Repetitionsrate von 100 kHz, und eine Spiral-Scangeometrie mit einem Durchmesser von 6 mm in einer Batch-Kammer verwendet wird. Als Medium wird Wasser verwendet, da es sowohl die höchste Produktivität zeigt als auch medizinisch unbedenklich ist.

Die Optimierung der Parameter für eine hohe Produktivität des Laserabtrags dient der Möglichkeit ein breites Spektrum an Nanopartikel-Konzentrationen im Komposit in hinreichenden Mengen herstellen zu können, um es für viele medizinische Anwendungsszenarien zu testen. Neben der Konzentration der Nanopartikel ist zudem die Zusammensetzung dieser für die Freisetzung von Ionen von Bedeutung. Da es einen Zusammenhang zwischen der Oxidation des Materials und der Ionenfreisetzung

gibt [113], wird eine Untersuchung des Einflusses der Sauerstoffkonzentration im Fluid auf die Zusammensetzung von Nanopartikeln durchgeführt.

6.3 Einfluss des Sauerstoffgehalts auf den Oxidationszustand lasergenerierter Nanopartikel

Die Zusammensetzung von Nanopartikeln ist von dem Medium abhängig, in dem die Partikel generiert werden. [27] Unter anderem wird vermutet, dass der Sauerstoffgehalt im Lösungsmittel bestimmend ist für den Oxidationszustand der resultierenden Nanopartikel. [227] [228] Es ist ersichtlich, dass der Grad der Oxidation für Ionenfreisetzungssysteme, welche in dieser Arbeit entwickelt werden sollten, von großer Bedeutung ist, da eine spätere Ionenfreisetzung aus Nanopartikeln aufgrund von Oxidationsprozessen stattfindet (vgl. Kapitel 2.2.2). Die Affinität zur Oxidation hängt neben dem Material von dessen Oxidationszustand ab. Aufgrund dieser Aspekte wurde durch die Entgasung des Lösungsmittels, hier wurde Wasser verwendet, der Einfluss verschiedener Sauerstoffgehalte auf den Oxidationsgrad der Nanopartikel, Kupfer und Titan, untersucht.

6.3.1 Entgasung von Wasser

Um eine exakte Versuchsplanung vornehmen zu können, mussten zunächst die Möglichkeiten der Entgasung von Wasser untersucht und beurteilt werden, was von Ivan Skenderovic im Rahmen seiner Vertiefungsarbeit unter meiner Planung und Leitung durchgeführt wurde. Diese Möglichkeiten waren zum einen die Entgasung mit Hilfe eines Entgasers im einzyklischen oder im mehrzyklischen Betrieb, und zum anderen die Verdrängung von Sauerstoff durch ein Alternativgas, wie Argon oder Stickstoff. Um eine spätere Anwendbarkeit auf den Laserabtragsprozess zu haben, bei dem innerhalb der Abtragskammer die Lösung in Bewegung gehalten wird, wurde auch hier in allen Experimenten das Wasser gerührt. Abbildung 42 zeigt die Effizienz der verschiedenen Entgasungsmittel.

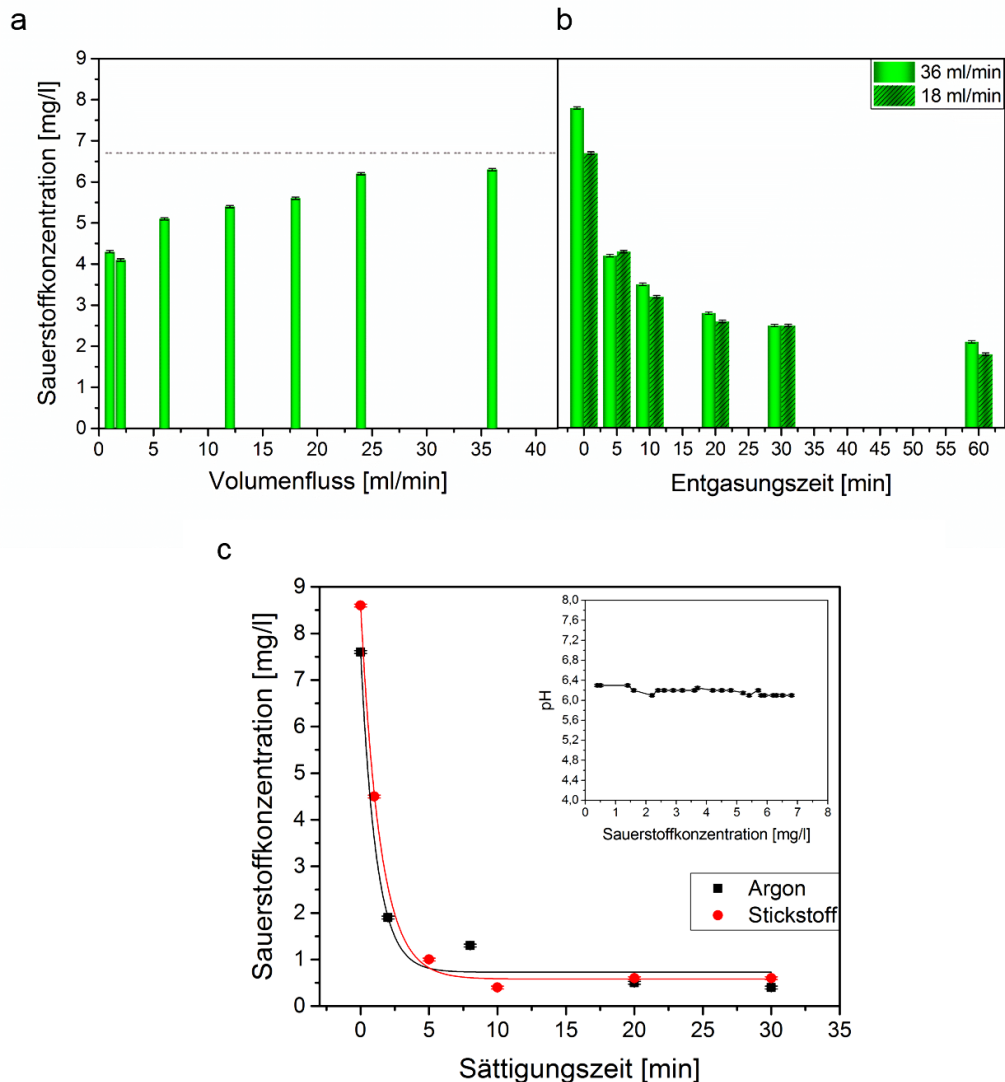


Abbildung 42: Entgasungseffizienz von Wasser mit einem Entgaser im einzyklischen (a) oder mehrzyklischen Betrieb (b) sowie durch Anreicherung mit Argon bzw. Stickstoff (c) in Abhängigkeit vom Volumenfluss, der Entgasungszeit oder Sättigungszeit. Der Inset in c zeigt den pH-Wert des Wassers bei verschiedenen Sauerstoffkonzentrationen. Die graue, gestrichelte Linie in a zeigt die Sauerstoffkonzentration von unbehandeltem Wasser.

Abbildung 42 a zeigt, dass bei der einzyklischen Entgasung, also wenn das Medium nur ein einziges Mal durch den Entgaser fließt, mit zunehmendem Volumenfluss die Effizienz der Entgasung abnimmt. Die minimal zu erreichende Sauerstoffkonzentration liegt bei 4,1 mg/l bei einem Volumenfluss von 2 ml/min. Das Funktionsprinzip des Entgasers besteht darin, das Medium durch einen Membranschlauch zu pumpen, wobei das im Medium enthaltene Gas durch Anlegen eines Vakuums durch die Membran austritt. Über die Einstein-Smoluchowski-Gleichung lässt sich dies einfach erläutern: [229] [230]

$$x^2 = 2 * D * t_v$$

Gl. 25

Bei konstantem Diffusionskoeffizienten D wird mit geringer werdendem Volumenfluss, also der Teilchenbewegung x , die Verweilzeit t_v im Entgaser größer, wodurch eine längere Zeit zur Verfügung steht, dass der Sauerstoff aus dem Wasser heraus diffundiert und somit eine bessere Entgasungseffizienz erzielt wird.

Bei der mehrzyklischen Entgasung wurde das Wasser in einem Kreislauf kontinuierlich durch den Entgaser geleitet. Die Variation dabei lag in der Entgasungszeit. Je länger das Experiment läuft, desto häufiger passiert das Medium die Membran im Entgaser und desto geringer wird die resultierende Sauerstoffkonzentration im Wasser (vgl. Abb. 42 b). Dabei hat auch eine Verdopplung des Volumenflusses von 18 ml/min auf 36 ml/min keinen Einfluss auf das Ergebnis. Bei der Verwendung des höheren Volumenflusses wird die Kontaktzeit der Flüssigkeit pro Durchlauf halbiert, was jedoch dadurch kompensiert wird, dass die Flüssigkeit doppelt so oft die Austauschmembran passiert. Die minimal erreichte Sauerstoffkonzentration nach 60 min liegt bei 1,8 mg/l.

Bei der Anreicherungsmethode wird das entsprechende Inertgas in das Medium eingeleitet, wodurch der Sauerstoff verdrängt wird. Dies geschieht über eine Glaspipette bei einem Gasdruck von etwa 1,5 bar. In Abbildung 42 c wird deutlich, dass es keinen Unterschied macht, welches Gas (Argon oder Stickstoff) verwendet wird. Die minimale Sauerstoffkonzentration liegt in diesem Versuch bei 0,4 mg/l nach 30 min Sättigungszeit und ist damit die beste Entgasungseffizienz, die erreicht werden kann. Im Fall von Titan-Nanopartikeln und unter der Annahme, dass lediglich Titandioxid (TiO_2) entsteht und die Nanopartikel vollständig durchoxidiert sind, können mit 0,4 mg/l Sauerstoff rund 0,6 mg/l Titan oxidiert werden, unter der Voraussetzung, dass der Abtrag auch unter Schutzgas erfolgt und kein weiterer Sauerstoffeintrag im Prozess erfolgt. Diese Masse ist beim Laserabtrag leicht zu erreichen. Tatsächlich wird pro Abtrag eine wesentlich größere Menge Titan abgetragen. Unter der Annahme, dass 200 mg/l Titan abgetragen werden, können mit einer Sauerstoffkonzentration von 0,4 mg/l lediglich 0,3 % vollständig zu TiO_2 oxidiert werden. Im Fall von Kupfer ergeben sich bei einer angenommenen abgetragenen Menge von 333 mg/l Kupfer lediglich 0,12 % vollständig zu Kupfer(II)-oxid (CuO) oxidierte Nanopartikel. Nach diesen Berechnungen würde es bedeuten, dass die restlichen Nanopartikel in anderen Oxidationsstufen vorliegen müssten. Die Bestimmung der Oxidationsstufen von in entgastem Wasser abgetragenen Nanopartikeln ist in Kapitel 6.3.2 zu finden.

Wie anhand von Zinkoxid (ZnO)-Nanopartikeln gezeigt werden konnte, wird die Nanopartikelgröße durch den pH-Wert während des Laserabtrags beeinflusst. Bei zunehmenden pH-Wert (von 5,36 zu 9,60) nahm die Partikelgröße zu und sank anschließend bis zu einem pH-Wert von 11,98 wieder ab. [231] Zhang *et al.* zeigten, dass diese Größe ebenfalls einen großen Einfluss auf die Ionenfreisetzung hat. So zeigten kleine Silber-Nanopartikel eine stärkere Freisetzungsrates als große. [232] Um zu beurteilen, ob bei der Entgasung von Wasser auch eine pH-Wert-Änderung stattfindet, wurde der pH-Wert bei verschiedenen Sauerstoffkonzentrationen gemessen. Die Messung ergab pH-Werte zwischen 6,0 und 6,4 ohne eine Abhängigkeit von der Sauerstoffkonzentration zu zeigen (vgl. Abb. 42 c). Dieses Ergebnis zeigt, dass eine Größenänderung der Nanopartikel und damit ein verändertes Freisetzungsverhalten aufgrund des pH-Wertes hier nicht vorliegen.

Beim Laserabtrag in entgasten Flüssigkeiten ist es nicht nur wichtig, eine möglichst hohe Entgasungseffizienz zu erzielen. Zudem ist es von besonderem Interesse, dass die Sauerstoffkonzentration über einen gewissen Zeitraum möglichst konstant bleibt. Dazu wurde die Lagerungsfähigkeit der verschiedenen Entgasungsmöglichkeiten über einen Zeitraum von 60 Minuten untersucht (vgl. Abb. 43).

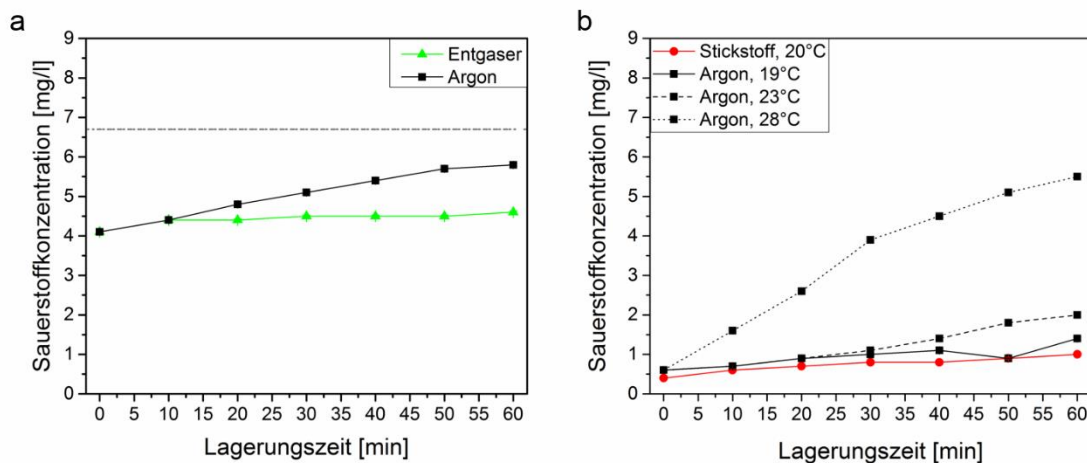


Abbildung 43: Lagerungsfähigkeit von entgastem Wasser. Gezeigt sind der Vergleich von Sättigung und Entgaser (a) sowie die Lagerung bei unterschiedlichen Temperaturen von gesättigtem Wasser (b).

Für eine bessere Vergleichbarkeit, wurden diese Experimente bei ähnlichen Startkonzentrationen an Sauerstoff begonnen. Beim Vergleich des Entgasers mit der Anreicherung mit Argon ist ersichtlich, dass bei der Anreicherung die Lagerfähigkeit geringfügig schlechter ausfällt, als bei der Verwendung des Entgasers (vgl. Abb. 43 a). Da aber, wie bereits gezeigt, die Anreicherungsmethode zu einer wesentlich besseren

Entgasungseffizienz führt, wurde die Lagerung von gasgesättigten Proben bei verschiedenen Temperaturen bei minimaler Sauerstoffkonzentration beobachtet (vgl. Abb. 43 b). Mit steigender Temperatur steigt die Sauerstoffkonzentration immer schneller wieder an. Dieser Effekt ist durch die Stokes-Einstein-Beziehung zu erklären, welche eine proportionale Abhängigkeit zwischen dem Diffusionskoeffizienten und der Temperatur ausdrückt. [230] Aus den Ergebnissen lässt sich schlussfolgern, dass bei Raumtemperatur eine Verwendung des entgasten Wassers innerhalb von maximal 30 min stattfinden sollte, da dort die Veränderung der Konzentration im Rahmen von lediglich 0,4 mg/l lag. Besser jedoch wäre noch eine Verwendung innerhalb der ersten 10 Minuten. Die Verwendung des Entgasers wäre in dem Fall zu bevorzugen, wenn eine mittelmäßige Entgasung ausreichend, aber eine langfristige Lagerung wichtig ist.

6.3.2 Laserablation in Wasser mit unterschiedlichen Sauerstoffkonzentrationen

Nach den in Abschnitt 6.3.1 gezeigten Ergebnissen wurde entschieden, die Entgasung von Wasser mit der Argonanreicherung durchzuführen, um eine möglichst große Bandbreite an Sauerstoffkonzentrationen erzeugen zu können. Es wurde der Laserabtrag mit zwei unterschiedlichen Metallen, Kupfer und Titan, durchgeführt. Eine Charakterisierung der resultierenden Nanopartikel erfolgte unter anderem hinsichtlich ihres Oxidationsgrades. Zunächst erfolgt eine Betrachtung der hergestellten Kupfer-Nanopartikel.

Abbildung 44 zeigt die Ergebnisse des Kupferabtrags in Wasser mit unterschiedlichen Sauerstoffkonzentrationen. Gemessen wurden das Zeta-Potential, der hydrodynamische Partikeldurchmesser mittels dynamischer Lichtstreuung (DLS) sowie die UV/VIS-Spektren, woraus die zugehörigen Bandlücken über den Tauc-Plot berechnet werden konnten. Die Sauerstoffkonzentration wird jeweils als Molverhältnis Cu:O₂ (im Bereich von 1:0,074 bis 1:0,0028) angegeben.

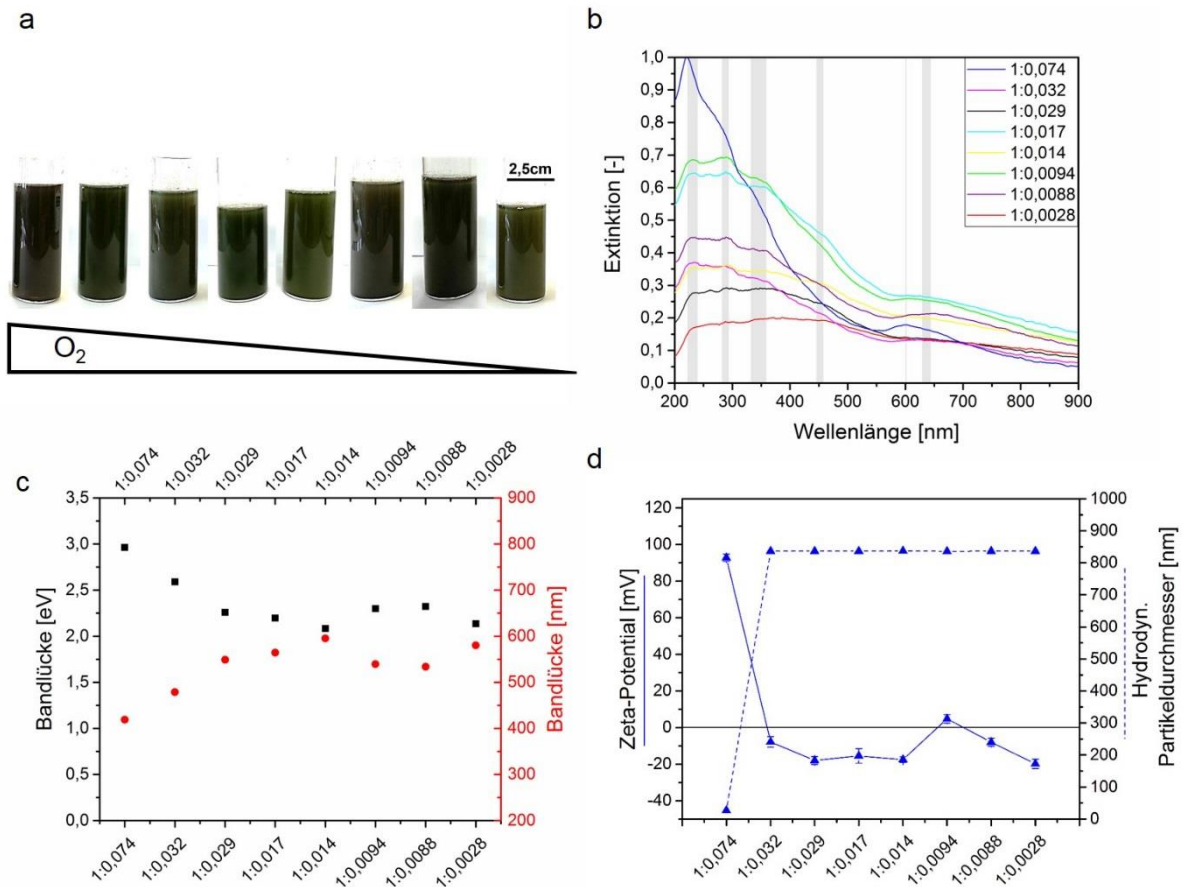


Abbildung 44: Ergebnisse des Abtrags von Kupfer in Wasser mit unterschiedlichen Sauerstoffkonzentrationen (angegeben in Molverhältnis Cu:O₂ in der Legende bzw. auf der x-Achse). Darstellung der hergestellten Kolloide mit abnehmender Sauerstoffkonzentration (von links nach rechts) (a) und UV/VIS-Spektren der Lösungen (b). Die grauen Bereiche markieren die charakteristischen Peakbereiche. Aus den UV/VIS-Spektren wurden über den Tauc-Plot die entsprechenden Bandlücken in eV und nm berechnet (c). Abbildung d zeigt die zugehörigen hydrodynamischen Partikeldurchmesser (gemessen über DLS, Anzahlhäufigkeit) und das Zeta-Potential.

Die Darstellung der Kolloide mit abnehmender Sauerstoffkonzentration (von links nach rechts) in Abbildung 44 a zeigt für alle Proben eine dunkel-grüne bis schwarze Färbung. Diese Färbung lässt laut verschiedener Literaturbelege auf die Bildung von Kupferoxiden schließen. [233] [234] [235] Ein Kolloid aus elementarem Kupfer würde eine rote Farbe zeigen [233] [236], was aber auch durch die grün/schwarze Farbe der Oxide überlagert sein kann. Die Aufnahme von UV/VIS-Spektren dieser Proben zeigt zwei deutliche Auffälligkeiten. Beim Abtrag in nicht-entgastem, bidestilliertem Wasser (Cu:O₂ = 1:0,074) sind deutliche Peaks bei 221 nm, 285 nm, 339 nm und 600 nm zu erkennen (vgl. Abb. 44 b). Die Zuordnung der meisten dieser Peaks ist in der Literatur nicht eindeutig belegt. Es wird berichtet, dass CuO-Nanopartikel-Signale bei Wellenlängen von 630 nm [235] oder bei 260 nm und 350 nm [237] vorliegen. Weiterhin sollen Signale bei 360 nm [236], 260 nm und 340 nm [235] sowie 650 nm

auf Kupfer(I)-oxid (Cu_2O)-Nanopartikel hinweisen. Elementares Kupfer zeigt seine Plasmonenresonanz bei einer Wellenlänge von 562 nm [233], 570-590 nm [236] [237] [238] [239] bzw. 600 nm [234]. Es lässt sich nur eindeutig sagen, dass die Plasmonenresonanz von elementarem Kupfer bei 560-600 nm liegt, während Signale bei höheren oder niedrigeren Wellenlängen auf eine Oxidation der Nanopartikel schließen lassen. [234] [237] [238] Dementsprechend sind in reinem bidestilliertem Wasser sowohl elementares Kupfer, als auch Kupferoxide gebildet worden. Eine Reduzierung der Sauerstoffkonzentration führt in allen Fällen zur Verbreiterung und leichten Verschiebung dieser Peaks. Dieser Effekt kann durch eine veränderte Partikelgrößenverteilung verursacht worden sein [234], was durch den gemessenen hydrodynamischen Partikeldurchmesser in Abbildung 44 d belegt ist und auf deutliche Aggregationseffekte hinweist. Im Vergleich zum Abtrag in bidestilliertem Wasser ist der hydrodynamische Partikeldurchmesser aller weiteren Proben, welche auch die veränderten UV/VIS-Spektren zeigten, um ein Vielfaches größer. Da auch das UV/VIS-Spektrum keinen eindeutigen Aufschluss des Oxidationsgrades der Nanopartikel bietet, wurde aus den Spektren jeweils über den Tauc-Plot (vgl. Anhang, Abb. 18) die Bandlücke berechnet (vgl. Abb. 44 c). Die Nanopartikel in reinem, bidestilliertem Wasser zeigen eine Bandlücke von 2,96 eV und damit den höchsten Wert in der Versuchsreihe. Mit abnehmendem Sauerstoffgehalt nimmt die Bandlücke bis zu einem Wert von 2,08 eV ($\text{Cu}:\text{O}_2 = 1:0,014$) ab und schwankt anschließend zwischen 2,3 eV und 2,1 eV. Die von Ching *et al.* berechnete Bandlücke von CuO beträgt 1,6 eV, während die von Cu_2O bei einem Wert von 0,78 eV liegt. [240] Die experimentellen Literaturwerte liegen jedoch bei Werten von 1,35-1,4 eV für CuO [241] [242] und 2,4 eV für Cu_2O [242]. Die in diesem Experiment erhaltenen Bandlücken schwanken um den Wert von Cu_2O , bzw. übertreffen ihn deutlich. Da Reddy *et al.* und weitere Forschungsgruppen zeigten, dass mit abnehmender Partikelgröße eine Vergrößerung der Bandlücke auftritt [243] [244] [245] [246], könnte neben einer Defektstruktur auch auf eine Variation der Partikelgröße in den Proben geschlossen werden. Diese Größenunterschiede sind allerdings nicht im DLS zu erkennen (vgl. Abb. 44 d). Es ist lediglich zu erkennen, dass eine Entgasung des Wassers zu einer drastischen Erhöhung des hydrodynamischen Durchmessers führt, was jedoch bedeuten kann, dass entweder große Partikel entstehen oder die Partikel dazu neigen, zu agglomerieren/aggregieren. Letztere Vermutung wird durch die Messung des Zeta-Potentials untermauert, das durch die Entgasung auf Werte nahe Null sinkt, was auf

eine Instabilität der Partikel hinweist. Es ist darauf hinzuweisen, dass durch die Anwesenheit von Agglomeraten sowohl im DLS als auch beim Zeta-Potential die Eigenschaften von kleinen Partikeln nicht detektiert werden. Das heißt, dass auch kleine Partikel vorliegen könnten, die in dem Fall auch ein abweichendes Zeta-Potential aufweisen würden, als jenes, welches in Abbildung 44 d dargestellt ist.

Eine weitere Möglichkeit der Strukturaufklärung bietet die Analyse der getrockneten Kolloide mittels Röntgendiffraktometrie. Alle oben bereits analysierten Proben wurden vermessen und die so erhaltenen Diffraktogramme in Abbildung 45 dargestellt.

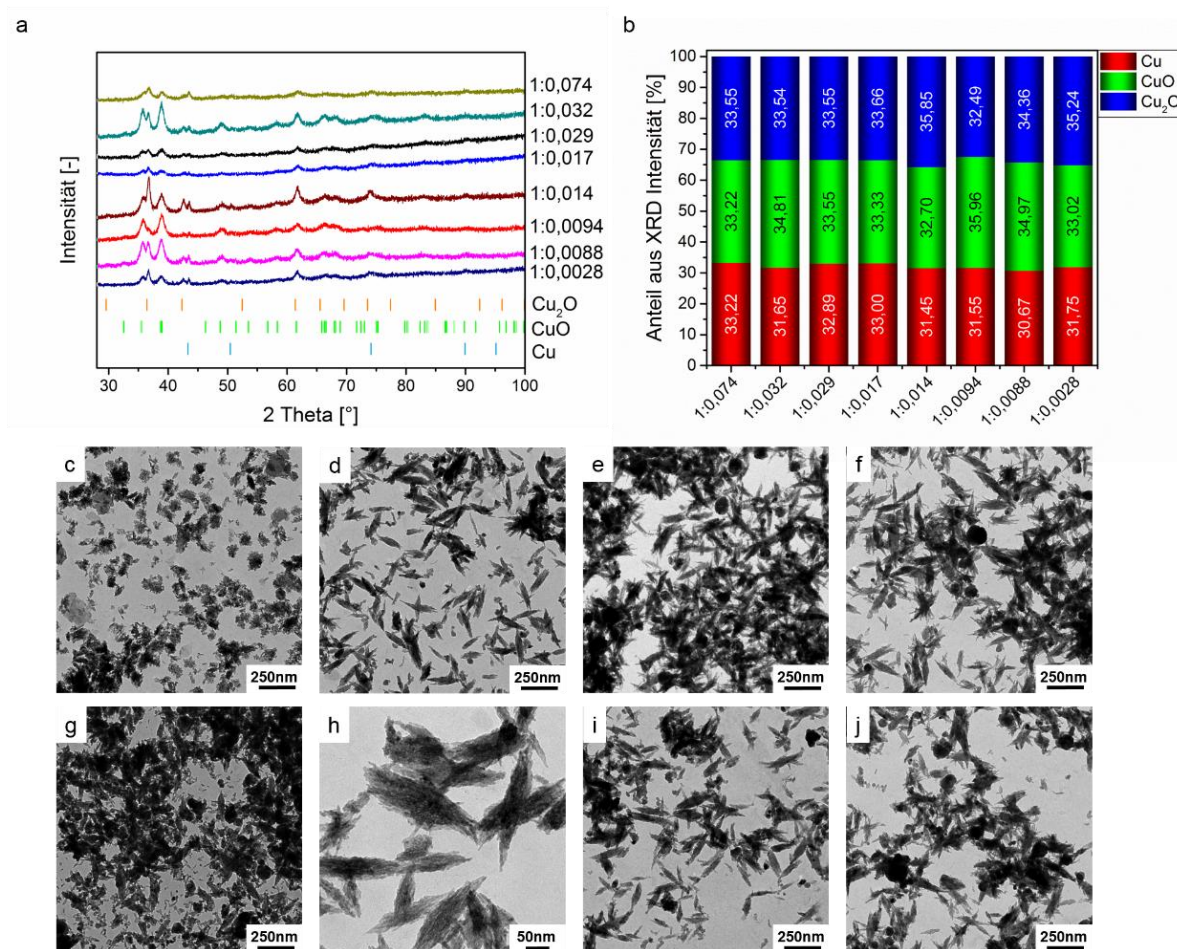


Abbildung 45: Diffraktogramme von Kupfer-Kolloiden, hergestellt bei verschiedenen Sauerstoffkonzentrationen (angegeben in Molverhältnis Cu:O₂ auf der x-Achse) (a). Referenzen: ICSD-Nr. 43493 (Cu), 16025 (CuO) und 52043 (Cu₂O). Aus den Intensitätsverhältnissen der Reflexe aus den Diffraktogrammen wurden die relativen Verhältnisse der verschiedenen Oxidationsgrade bestimmt (b). Für jedes Molverhältnis Cu:O₂ in abnehmender Reihenfolge sind die zugehörigen TEM-Aufnahmen dargestellt (c-j).

Alle Proben weisen dieselben Reflexe auf, lediglich mit variierenden Intensitäten. Die Intensität der Reflexe hängt maßgeblich von der bei der Messung verwendeten Masse an Probe ab und hat keine qualitative Bedeutung. Zu erkennen ist, dass alle Proben sowohl elementares Kupfer, Cu(I) und Cu(II) enthalten (vgl. Abb. 45 a). CuO

kristallisiert monoklin, Cu_2O kubisch. [240] Eine leichte Verschiebung der Reflexe im Vergleich zur Referenz weist auf eine leichte Änderung der Gitterkonstanten hin, was in allen Fällen zu beobachten ist. Reddy *et al.* belegten, dass eine Vergrößerung des Bragg-Winkels θ auf eine Reduzierung der Partikelgröße hinweist [243], was hier jedoch nicht mit dem hydrodynamischen Partikeldurchmesser belegt werden konnte (vgl. Abb. 44 d). Auch die Transmissionselektronenspektroskopie (TEM)-Aufnahmen geben keinen Aufschluss über mögliche Größeneffekte. Vielmehr ist deutlich zu sehen, dass keine sphärischen Partikel vorlagen, sondern breite, nadelförmige Strukturen zu erkennen sind. Aufgrund der starken Überlagerung der Partikel miteinander, konnten keine verlässlichen und aussagekräftigen Histogramme erstellt werden, um Aussagen über die Partikelgröße zu treffen. Marzun *et al.* beobachteten ähnliche Nadelstrukturen und führten diese auf CuO zurück. [214] Über die in Kapitel 4.2.2 vorgestellte Scherrer-Gleichung lassen sich aus den Diffraktogrammen die Kristallgrößen der verschiedenen Verbindungen berechnen. Es ergeben sich Kristalldurchmesser von 34,6 nm für Cu (1:0,0088, $2\theta = 43,45^\circ$), 8,8 nm für CuO (1:0,032, $2\theta = 38,87^\circ$) und 16,5 nm für Cu_2O (1:0,014, $2\theta = 36,72^\circ$). Da bei den Berechnungen allerdings sphärische Partikel zugrunde liegen, sind diese Werte kritisch zu betrachten.

Die aus den Intensitäten berechneten Verhältnisse der Oxidationsstufen von Kupfer zeigen, dass alle Proben mit der relativen Anteiltendenz $\text{Cu}_2\text{O} > \text{CuO} > \text{Cu}$ (vgl. Abb. 45 b) ähnlich zusammengesetzt waren.

Schlussfolgernd konnte gezeigt werden, dass beim Laserabtrag von Kupfer in Wasser mit unterschiedlichen Sauerstoffkonzentrationen sowohl elementares Kupfer als auch CuO und Cu_2O hergestellt wird. Die eingestellte Sauerstoffkonzentration konnte dabei allerdings nicht die Bildungstendenz der einzelnen Strukturen beeinflussen. Identische Experimente wurden auch für das Element Titan durchgeführt und werden im Weiteren betrachtet.

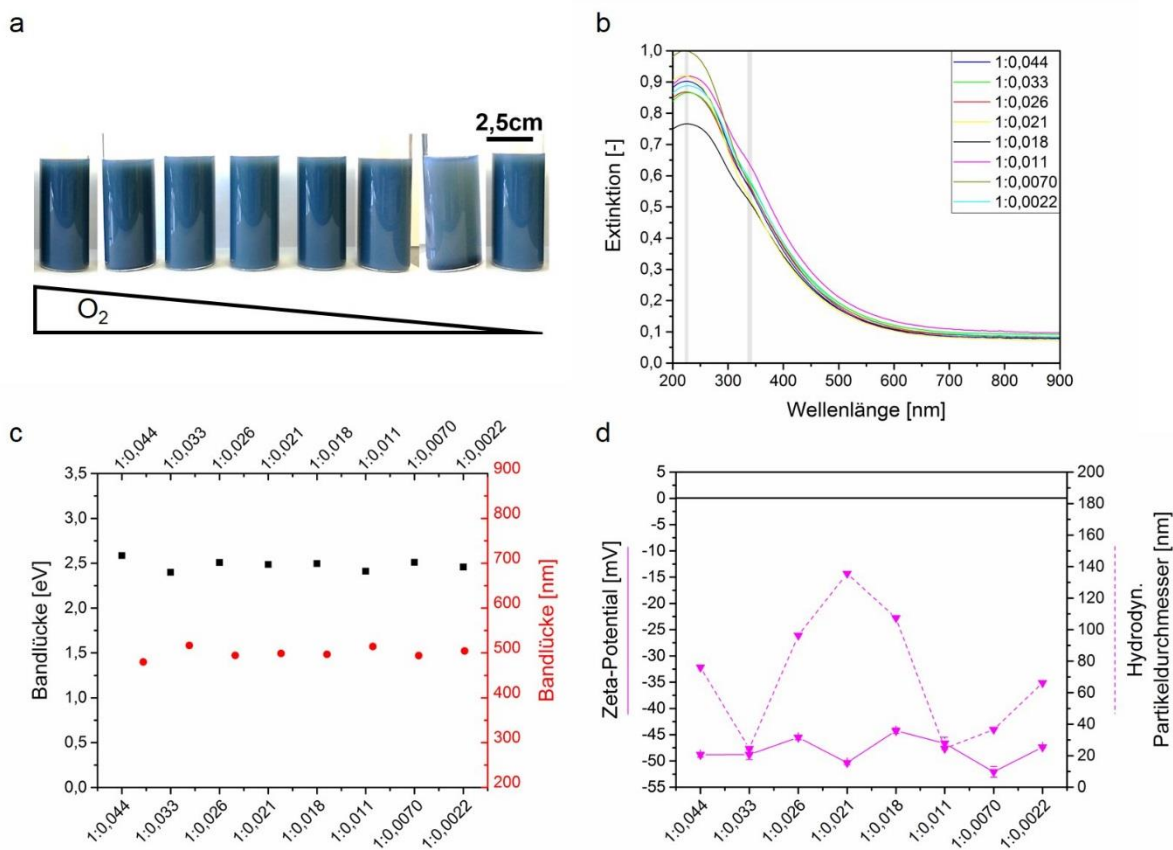


Abbildung 46: Ergebnisse des Abtrags von Titan in Wasser mit unterschiedlichen Sauerstoffkonzentrationen (angegeben in Molverhältnis Ti:O₂ in der Legende bzw. auf der x-Achse). Darstellung der hergestellten Kolloide mit abnehmender Sauerstoffkonzentration (von links nach rechts) (a) und UV/VIS-Spektren der Lösungen (b). Die grauen Bereiche markieren die charakteristischen Peakbereiche. Aus den UV/VIS-Spektren wurden über den Tauc-Plot die entsprechenden Bandlücken in eV und nm berechnet (c). Abbildung d zeigt die zugehörigen hydrodynamischen Partikeldurchmesser (gemessen über DLS, Anzahlhäufigkeit) und das Zeta-Potential.

Anhand der Probenfotos in Abbildung 46 a lässt sich eine erste Schlussfolgerung über den Zustand der Titan-Nanopartikel treffen. Durch die blaue Farbe der Proben kann geschlussfolgert werden, dass es sich nicht um reines TiO₂ handeln kann, da bekannt ist, dass dies als weiße Suspension vorliegt. [247] Im UV/VIS-Spektrum zeigen sich jedoch die charakteristischen Peaks für TiO₂. So sind die dazugehörigen Wellenlängen in der Literatur mit 200 nm [248] bzw. 225 nm [249] und einer weiteren Schulter zwischen etwa 250 nm und 330 nm [248] definiert. [250] Je stärker eine Rotverschiebung vorliegt, desto mehr TiO₂ ist in der Probe enthalten. [249] Diese Werte lassen sich auch in Abbildung 46 b wiederfinden, was für die Bildung von TiO₂ spricht. Die aus den Spektren berechneten Bandlücken (Tauc-Plot siehe Anhang, Abbildung 28) sind in Abbildung 46 c für alle Proben zusammengefasst und zeigen Werte, die nur geringfügig zwischen 2,6 eV und 2,4 eV variieren. Diese Werte weichen alle von den in der Literatur belegten Werte für amorphes TiO₂ (3,96 eV), Anatas (3,19

eV), Brookit (3,11 eV) oder Rutil (3,0 eV) ab. [251] [252] Diese Abweichung kann, wie bereits im Fall von Kupfer geschildert, auf Defekte oder Partikelgrößeneffekte zurückgeführt werden. [243]

Die in Abbildung 46 gezeigten Titanproben wiesen ein Zeta-Potential von -44 mV bis -52 mV auf. Suttioponparnit *et al.* berichteten eine Größenabhängigkeit des Zeta-Potentials bei TiO₂. Bei einem pH-Wert von ~6,2 (siehe Kapitel 6.3.1) zeigten dort Anatas-Partikel einer Größe von 6 nm ein Zeta-Potential von etwa -4 mV, während Partikel mit 104 nm ein Zeta-Potential von etwa -36 mV aufwiesen. [253] Damit weichen die hier erhaltenen Werte nur gering vom Literaturwert ab.

Bei der Messung des hydrodynamischen Partikeldurchmessers fällt das Auftreten eines Maximums auf (vgl. Abb. 46 d), während das Zeta-Potential gleich bleibt. Eine Erklärung könnte darin liegen, dass bei der DLS-Messung Agglomerate in der Probe enthalten waren, die gemessen wurden, während bei der Zeta-Potential-Messung nur ein Teil der Probe entnommen und vermessen wird. Dabei waren möglicherweise diese Agglomerate nicht vertreten und beeinflussten nicht das Zeta-Potential.

Auch für die Titanproben wurde die Röntgendiffraktometrie zur weiteren Strukturaufklärung verwendet und durch die Röntgenphotoelektronenspektroskopie (XPS) ergänzt.

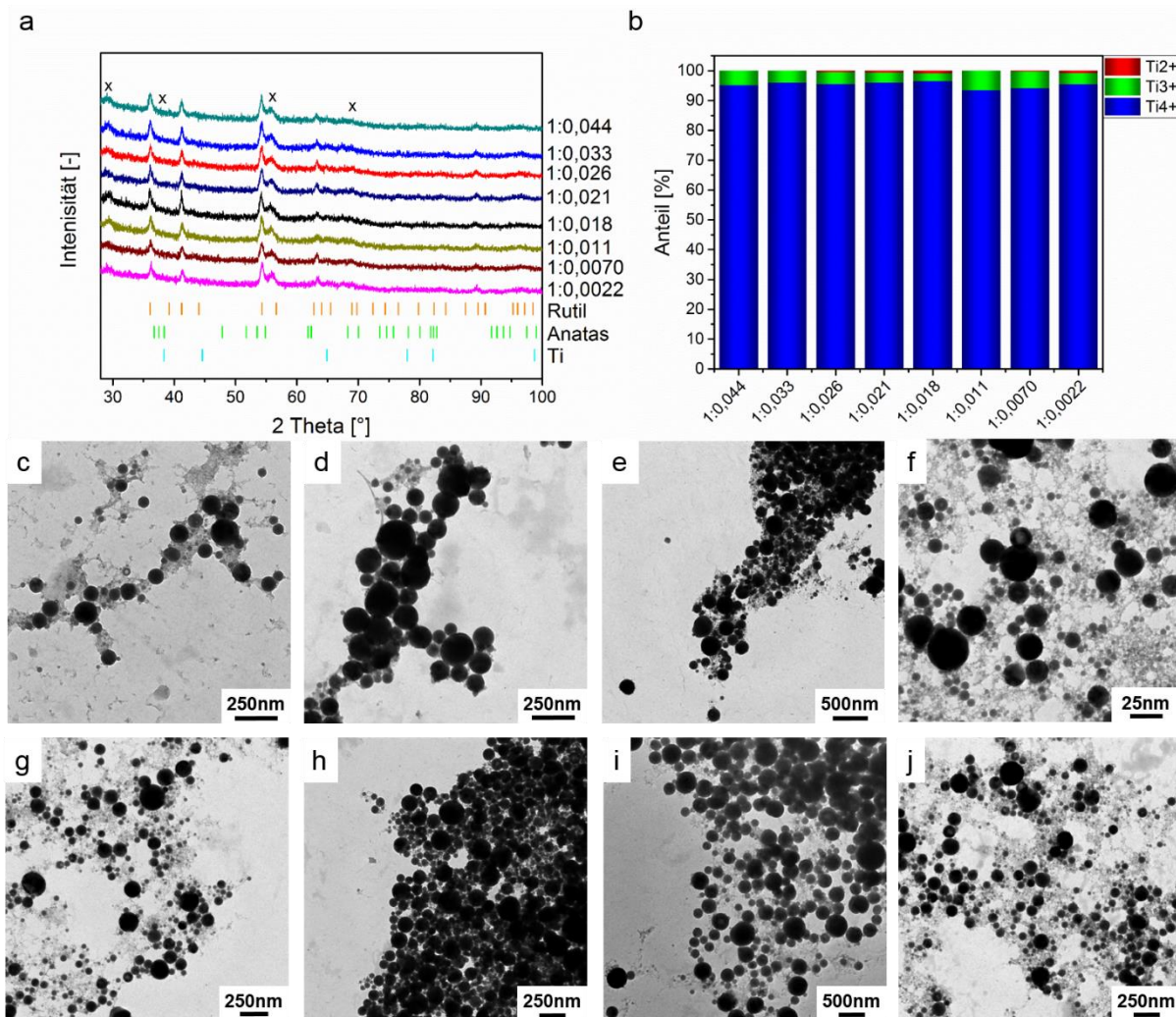


Abbildung 47: Diffraktogramme von Titan-Kolloiden, hergestellt bei verschiedenen Sauerstoffkonzentrationen (angegeben in Molverhältnis Ti:O₂ auf der x-Achse) (a). Referenzen: ICSD-Nr. 41503 (Ti), 9161 (TiO₂, Rutil) und 9854 (TiO₂, Anatas). Durch die Röntgenphotoelektronenspektroskopie konnten die prozentualen Anteile der verschiedenen Oxidationsstufen bestimmt werden (b). Für jedes Molverhältnis Ti:O₂ in abnehmender Reihenfolge sind die zugehörigen TEM-Aufnahmen dargestellt (c-j).

Die XRD-Analyse zeigt, dass lediglich TiO₂ als tetragonales [254] Rutil gebildet wurde (vgl. Abb. 47 a). Die mit einem x gekennzeichneten Reflexe hingegen sind weder elementarem Titan noch Titan(II)-oxid (TiO), Rutil oder Anatas zuzuordnen und konnten in dieser Arbeit nicht weiter identifiziert werden. Bei einer niedrigen Sauerstoffkonzentration treten mehr Sauerstoff-Fehlstellen auf, als bei hohen, wodurch die Umsetzung von Anatas zu Rutil begünstigt wird. [255] [256] Zudem fördern Nanopartikel durch ihr hohes Oberflächen-zu-Volumen-Verhältnis die Bildung von Sauerstoff-Fehlstellen [255], was demnach die Bildung von Rutil begünstigt. Dies wird durch weitere Studien bestätigt, die zeigten, dass in normal begastem Wasser hauptsächlich Anatas entsteht und Rutil sowie Suboxide nur nebensächlich vorhanden waren. [250]

Die in Abbildung 46 a gezeigte blaue Färbung der Kolloide, aufgrund dessen bereits eine Defektbildung vermutet wurde, kann auf die Bildung von sogenannten Magneli-Phasen zurückgeführt werden. Dies wird durch den Nachweis von Ti^{3+} - und Ti^{2+} -Phasen im XPS bestätigt (vgl. Abb. 47 b). Die stark blaue Färbung überlagert die für das TiO_2 typische weiße Farbe. Blaue Suboxide des Titans wurden auch schon zuvor in Form von Ti_5O_9 und Ti_9O_{17} durch Plasmatechniken hergestellt. [257]

Beim Laserabtrag von Titan in Wasser zeigte sich in bisherigen Studien die Bildung von TiO , Ti_2O_3 sowie Rutil, wobei gezeigt wurde, dass die Partikel dazu tendieren zu agglomerieren. [248] Dieses Verhalten lässt sich bei den in Abbildung 47 c-j dargestellten Partikeln ebenfalls beobachten. Durch diese dichte Zusammenballung der Partikel war es nicht möglich eine ausreichende Anzahl Partikel zu vermessen, um ein repräsentatives Histogramm der Partikelgröße darstellen zu können. Es ist aber deutlich zu erkennen, dass sowohl kleine Partikel von etwa 15 nm als auch große Partikel bis zu 250 nm vorzufinden sind. Aus den Diffraktogrammen des XRD wurde über die Scherrer-Gleichung die Kristallitgröße der Rutil-Partikel mit 15,91 nm ($1:0,0022$, $2\theta = 54,35^\circ$) berechnet. Verglichen mit den TEM-Aufnahmen ist diese Größe realistisch.

Abschließend für die Experimente zur Kontrolle des Oxidationszustandes über die Entgasung des Lösungsmittels lässt sich sagen, dass es nicht möglich war über die Sauerstoffkonzentration des Wassers die Zusammensetzung der Nanopartikel zu beeinflussen. Diese Ergebnisse decken sich mit Experimenten von Ruth *et al.*, bei denen die Herstellung von CdSe und CdTe Nanopartikeln in reinem und entgastem Wasser keinerlei Beeinflussung der Struktur zeigte. [258] Eine Erklärung dafür liefern Marzun *et al.*, die schlussfolgerten, dass nicht der im Wasser enthaltene Sauerstoff für die Oxidation der Nanopartikel verantwortlich ist. Vielmehr erzeugt die Laserbestrahlung eine Zersetzung des Wassers, was zur Entstehung von oxidativen Spezies, wie OH-Radikale, führt. [214] Daher ist es verständlich, dass in den hier gezeigten Ergebnissen in allen Proben Oxide entstanden. Es werden in allen Experimenten Mischungen unterschiedlicher Oxidationszustände von Titan und Kupfer erhalten, welche der relativen Anteiltendenz $Cu_2O > CuO > Cu$ bzw. $TiO_2 > Ti_2O_3 > TiO$ folgen. Zu Beginn des Kapitels wurde berechnet, dass bei einer Sauerstoffkonzentration von 0,4 mg/l nur etwa 0,3 % Titan vollständig oxidiert werden könnten.

Nachdem die Entgasung nicht zu einer Kontrolle des Oxidationszustands führte, wurden die Nanopartikel-Polymer-Komposite mit normalen bidestillierten Wasser hergestellt. Diese Systeme wurden dann für die weiteren Anwendungen auf ihre Materialeigenschaften untersucht.

6.4 Synthese von Ionenquellen: Herstellung und Charakterisierung

Zur Nutzung von metallischen Nanopartikeln als Ionenquelle für medizinische Anwendungen und zur Generierung von künstlichem Gewebe über gezielte Zellzüchtung ist es notwendig diese in eine Matrix einzubinden. Dadurch wird ein direkter Kontakt der Partikel mit den Zellen und ein dadurch möglicher toxischer Effekt der Nanopartikel verhindert. Zur Einbettung der Partikel wurden zum einen Polymerverbindungen verwendet, die die Nanopartikel innerhalb eines Polymerfilms einschließen (vgl. Abb. 48 a) und zum anderen ein Mikrogelsystem, welches die Nanopartikel einkapselt (vgl. Abb. 48 b).

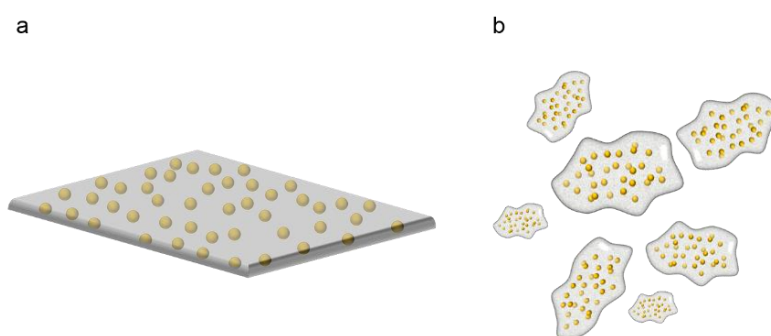


Abbildung 48: Darstellung der verschiedenen Kompositsysteme. PVCL und PVCL/PEG-MA bilden Filme (a), PVCL/AAEM bildet Kapseln (b) in denen die Nanopartikel eingeschlossen sind.

Die Experimente der Systeme PVCL und PVCL/AAEM wurden durch Marcus Hildebrandt, Ana Rosa de Lima und Insa Rapp im Rahmen ihrer von mir betreuten studentischen Arbeiten unterstützt.

Poly-N-Vinylcaprolactam (PVCL)

Zunächst wurde das in allen genutzten Verbindungen enthaltene Polymer Poly-N-Vinylcaprolactam hinsichtlich seiner Eigenschaften in Verbindung mit Nanopartikeln untersucht. Dazu wurden die Gold-Nanopartikel in Gegenwart des Monomers N-Vinylcaprolactam (VCL), dem Vernetzer *N,N'*-Methylenbis(acrylamid) (BIS) und dem Polymerisationsinitiator 2,2'-Azobis (2-methylpropionamidin) dihydrochlorid (AMPA) generiert.

Bei der Variation der Monomerkonzentration zeigen die Größen-Messungen mittels DLS deutlich, dass mit zunehmender Konzentration die durchschnittliche Größe der Metall-Polymer-Hybridpartikel zunimmt (vgl. Abb. 49 a). Aufgrund der zunehmenden Monomerkonzentration bildet sich eine dickere Polymerschicht um den Metallkern aus, wodurch der hydrodynamische Durchmesser zunimmt. Abbildung 49 b zeigt das

zugehörige Zeta-Potential bei verschiedenen pH-Werten. Der isoelektrische Punkt ist hier nicht exakt zu bestimmen, doch kann er zwischen einem pH-Wert von 4-8 eingeschätzt werden. Dies bedeutet, dass bei allen in dieser Arbeit angefertigten Experimenten bei einem pH-Wert von 7 das Polymer ebenfalls ungeladen ist.

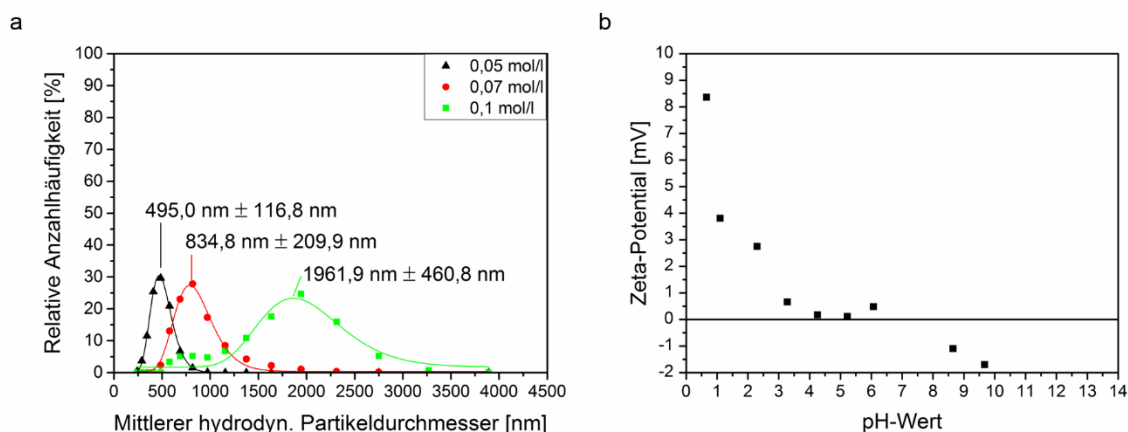


Abbildung 49: Hydrodynamischer Durchmesser von Gold-Nanopartikel-beladenem PVCL, bestimmt über dynamische Lichtstreuung (DLS) bei der Variation der Monomerkonzentration (hergestellt am Nanosekundenlaser) (a) und Zeta-Potential von unbeladenem PVCL (0,1 mol/l) (b).

Die thermische Stabilität des Polymers kann über die thermogravimetrische Analyse (TGA) bestimmt werden. In der folgenden Abbildung sind die Thermogravimetrie-Kurven von Nanopartikel-beladenem PVCL und die daraus resultierenden DTG-Kurven (erste Ableitung der TG-Kurve) dargestellt, um die Zersetzungstemperaturen einfacher bestimmen zu können. Diese Temperaturen sind zur Verbesserung der Übersichtlichkeit ebenfalls eingetragen.

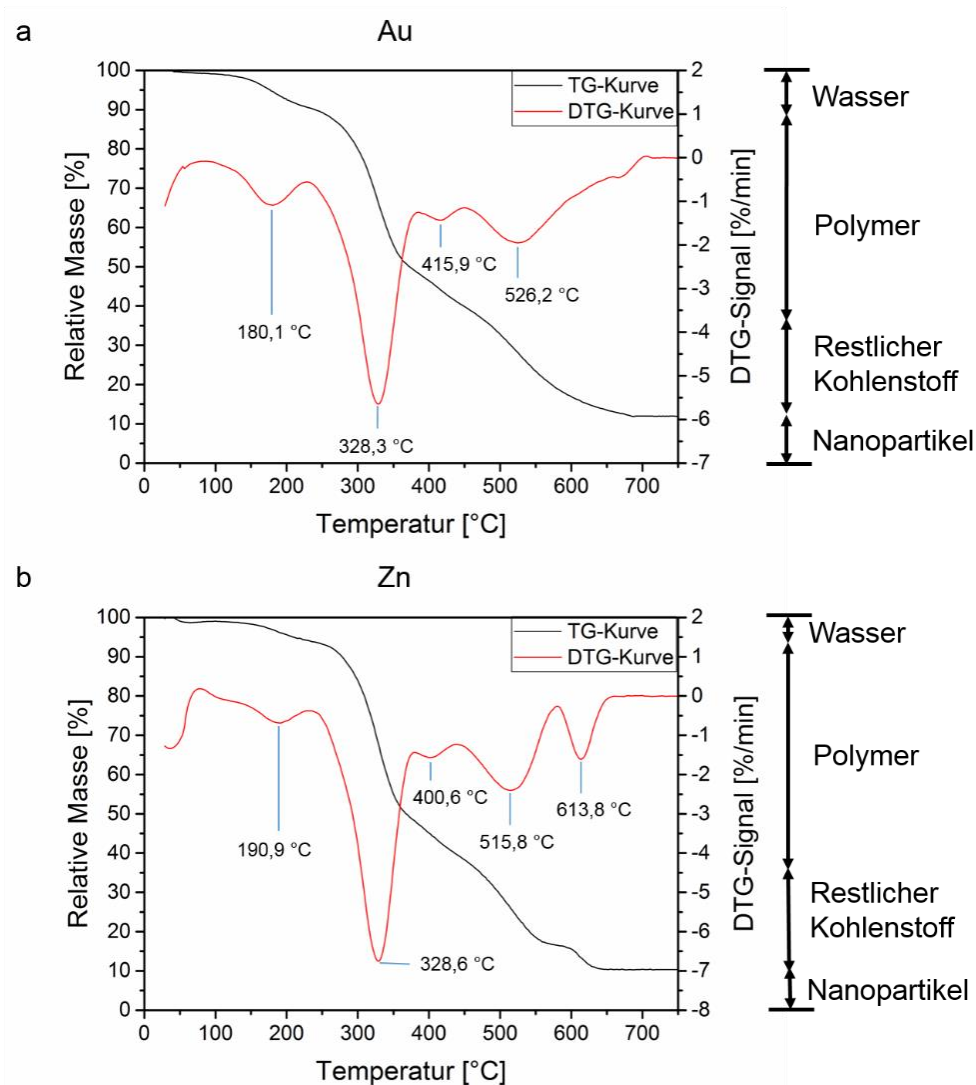


Abbildung 50: Thermogravimetrische Analyse von 0,05 mol/l PVCL, beladen mit Gold-Nanopartikeln (a) und Zink-Nanopartikeln (b) (hergestellt am Nanosekundenlaser) in Sauerstoffatmosphäre. Die Heizrate beträgt 5 °C/min.

Bis zu einer Temperatur von rund 200 °C verliert das Polymer zunächst Wasser. [259] Die Zersetzungstemperatur von etwa 328 °C stellt die Zersetzungstemperatur des Polymers dar. Die in der Auftragung zu sehenden Peaks oberhalb von 400 °C kennzeichnen die Zersetzung des restlich verbliebenen Kohlenstoffs, sodass die zurückbleibende relative Masse den eingebetteten Nanopartikeln zugeordnet werden kann. Dies bedeutet, dass das Polymer bis zu einer Temperatur von 328 °C stabil ist und die Nanopartikel bis zu dieser Temperatur zuverlässig einschließt.

Da jedoch bereits in vorherigen Arbeiten von Nachev *et al.* gezeigt werden konnte, dass die Einbettung der Nanopartikel während der Polymerisation nicht vollständig verläuft und einige Nanopartikel ohne Polymer vorlagen [105], wird ein Copolymer zum VCL hinzugezogen.

Poly-*N*-Vinylcaprolactam/2-(Methacryloyloxy)ethyl-acetoacetat (PVCL/AAEM)

Bei dem hier gewählten Copolymer wurde zu dem Monomer *N*-Vinylcaprolactam (VCL) das Comonomer 2-(Methacryloyloxy)ethyl-acetoacetat (AAEM) (die jeweiligen Konzentrationen sind dem Experimentaltail zu entnehmen) hinzugegeben. Dadurch bildet sich das bereits in Kapitel 2.2.1 beschriebene Mikrogel.

Auch hier wurde eine Variation der VCL-Konzentration durchgeführt und die resultierende Polymergröße mittels DLS untersucht. Der Anteil an AAEM beträgt für alle VCL-Konzentrationen immer 5 mol% zu VCL. Zudem wurde der Einfluss der Betriebstemperatur während des Laserabtrags betrachtet (vgl. Abb. 51 a).

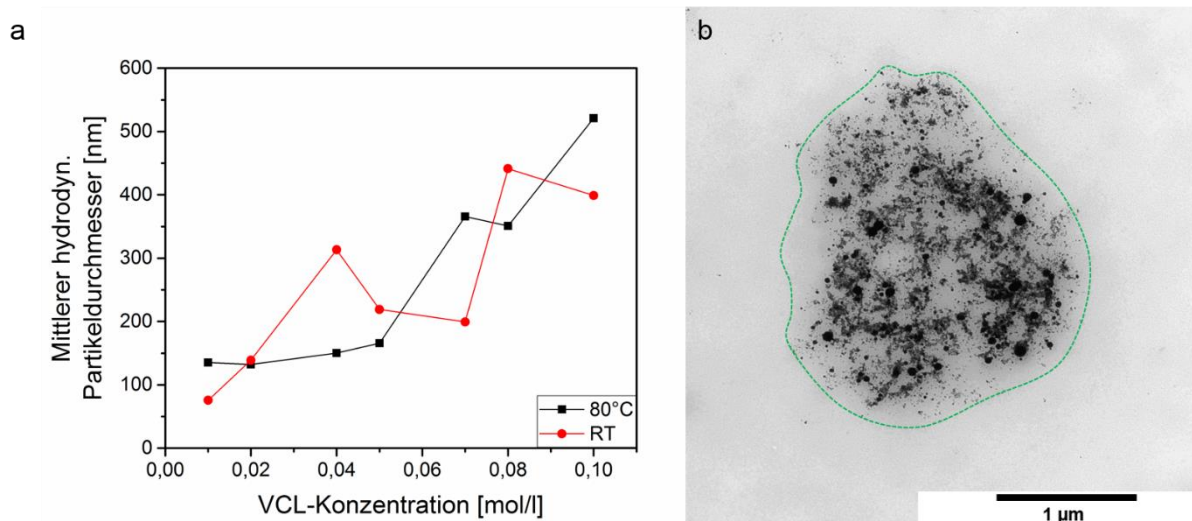


Abbildung 51: Mittlerer hydrodynamischer Partikeldurchmesser von PVCL/AAEM-Mikrogelen beladen mit Zink-Nanopartikeln bei unterschiedlichen VCL-Konzentrationen und in Abhängigkeit von der Betriebstemperatur (80 °C und Raumtemperatur) (a). TEM-Aufnahme eines PVCL/AAEM-Mikrogels (0,1 mol/l VCL), beladen mit Gold-Nanopartikeln (b). Die TEM-Aufnahme wurde von Dr. Philipp Wilke³⁰ angefertigt.

Je höher die Konzentration von VCL gewählt wurde, desto größer ist das Mikrogel, unabhängig davon, ob der Laserabtrag bei Raumtemperatur oder bei 80 °C stattfindet. Dieses Ergebnis ist dadurch zu erklären, dass alle Probelösungen für insgesamt eine Stunde bei 80 °C gerührt wurden, wobei die „kalten“ Proben erst nach dem Laserabtrag erhitzt wurden. Es wurde erneut deutlich, wie bereits in Kapitel 6.2.3 geschildert, dass die Nanopartikel bei Raumtemperatur nicht vollständig eingebettet wurden. Visuell war dies durch einen Ausfall der Partikel zu erkennen. Daher wurde der Abtrag bei 80 °C als Standardmethode gewählt. Die resultierten Mikrogele wurden mittels TEM untersucht (vgl. Abb. 51 b). Auf der TEM-Aufnahme ist die (in grün

³⁰ DWI - Leibniz-Institut für Interaktive Materialien und RWTH Aachen Universität, Leitung: Prof. Dr. Andrij Pich

markierte) Mikrogelkapsel, die die Gold-Nanopartikel eingeschlossen hat, zu erkennen. Die Nanopartikel selber liegen als Agglomerate vor, was auf einen Trocknungseffekt auf dem TEM-Grid zurückgeführt werden könnte. [80] Wie von Pich *et al.* gezeigt wurde, besteht das Mikrogel aus einer Kern-Hülle Struktur. [20] Die Reaktivität des hydrophoben AAEM ist wesentlich höher als von VCL, weshalb es schneller abreagiert und damit den stark vernetzten Kern des Gels bildet. Die Hülle besteht aus schwach vernetztem VCL. [20] [80] [82] Die Einkapselung der Nanopartikel durch dieses Copolymer ist vollständig und schirmt die Partikel erfolgreich von der Umgebung ab. Die Polymerstabilisierung von Nanopartikeln wurde schon von verschiedensten Forschergruppen, z.B. durch Verwendung von TPU oder Polyvinylpyrrolidon (PVP), dokumentiert. [18] [260] Die Stabilität des Mikrogels und die Einbettung der Nanopartikel wurden durch die Anfertigung von TG-Analysen bestätigt.

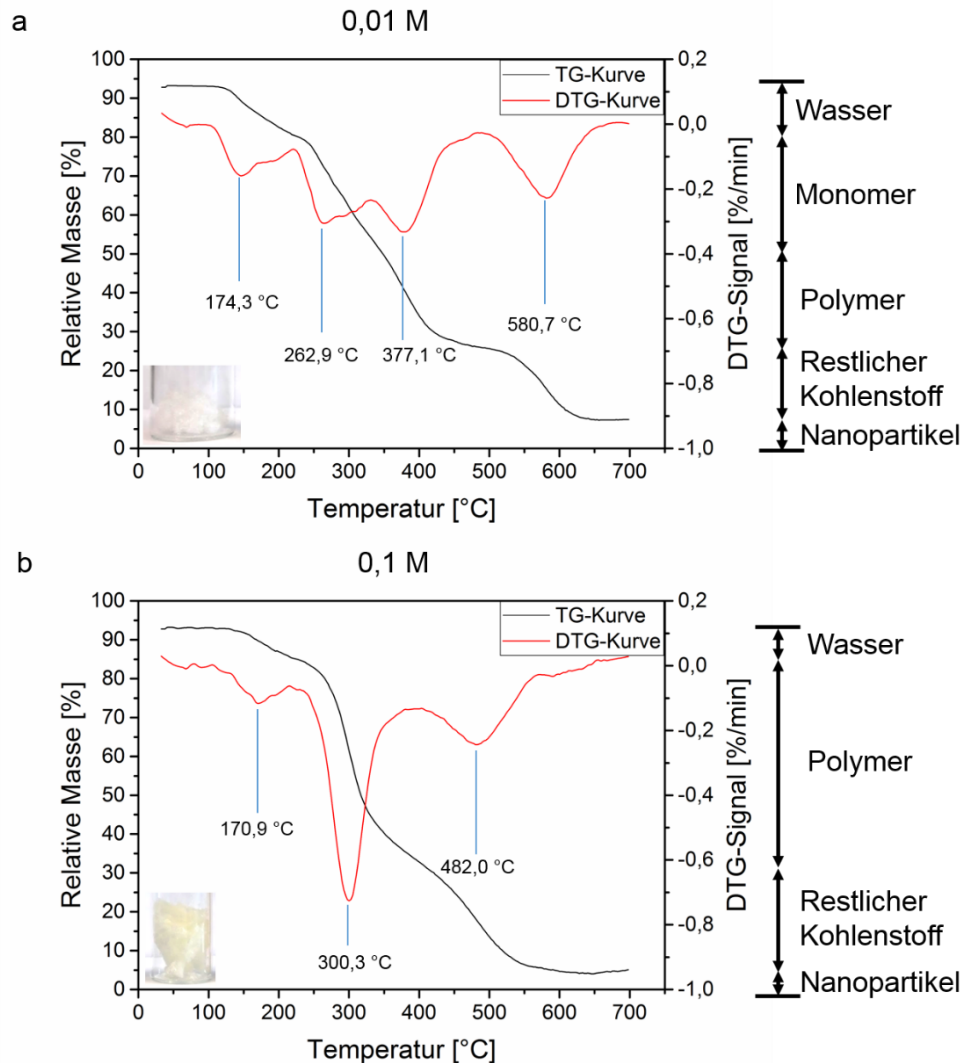


Abbildung 52: Thermogravimetrische Analyse von PVCL/AAEM beladenen mit Zink-Nanopartikeln bei zwei unterschiedlichen VCL-Ausgangskonzentrationen in Sauerstoffatmosphäre. Die Heizrate beträgt 5 °C/min. Die TGA-Messungen wurden von Dr. Philipp Wilke³¹ durchgeführt.

Erneut ist zunächst der Wasserverlust aus dem Polymer bei einer Temperatur von 170-174 °C zu erkennen. Bei einer geringen VCL-Ausgangskonzentration von 0,01 mol/l (vgl. Abb. 52 a) ist zu sehen, dass neben der Zersetzung des Polymers bei ca. 377 °C zuvor eine Zersetzung von restlichen Monomerbestandteilen bei etwa 263 °C stattfindet. Diese Zersetzungsstufe ist bei der Verwendung von 0,1 mol/l nicht zu erkennen, was bedeutet, dass kein Monomer in der Probe enthalten ist. Die Zersetzungstemperatur des Polymers liegt dort bei 300,3 °C, wie auch bereits von Boyko *et al.* berichtet wurde. [82] Nach der Zersetzung des restlichen Kohlenstoffs der Probe bleibt die Restmasse an Nanopartikeln zurück. [20]

³¹ DWI - Leibniz-Institut für Interaktive Materialien und RWTH Aachen Universität, Leitung: Prof. Dr. Andrij Pich

Über die Technik der Infrarot (IR)-Spektroskopie konnte die Zusammensetzung des Copolymers analysiert werden. Abbildung 53 a zeigt die Spektren der Monomere, die Abbildungen 53 b-e stellen die Spektren des Mikrogels beladen mit verschiedenen metallischen Nanopartikeln im Vergleich mit einem unbeladenen Mikrogel dar.

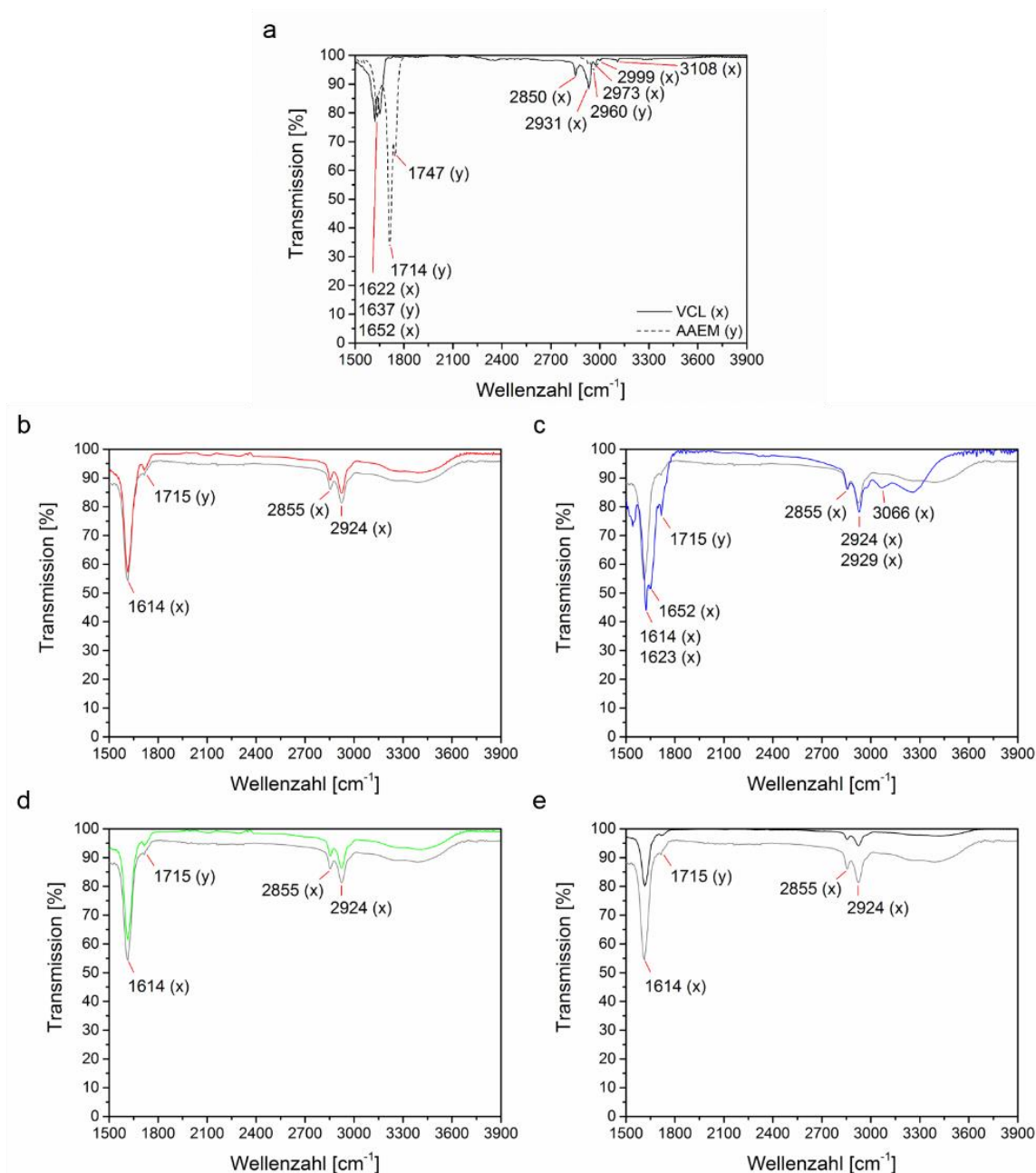


Abbildung 53: Infrarotspektren (IR-Spektren) der Monomere VCL und AAEM (a), PVCL/AAEM-Mikrogel mit Gold-Nanopartikeln (rot) (b), PVCL/AAEM-Mikrogel mit Kupfer-Nanopartikeln (blau) (c), PVCL/AAEM-Mikrogel mit Eisen-Nanopartikeln (grün) (d) und PVCL/AAEM-Mikrogel mit Zink-Nanopartikeln (schwarz) (e), jeweils im Vergleich zu einem unbeladenen PVCL/AAEM-Mikrogel (grau).

Der Vergleich der Spektren untereinander zeigt deutlich, dass das entstandene Mikrogel sowohl die charakteristischen Banden für VCL als auch für AAEM enthalten.

Für VCL liegen diese bei rund $2850\text{-}2924\text{ cm}^{-1}$ für die C-H Schwingung und 1614 cm^{-1} für die Amidgruppe. [82] [259] AAEM zeigt einen Peak bei etwa 1715 cm^{-1} für die C=O Bindung, wobei nicht unterschieden werden kann, ob es sich um die Carbonyle der Ester- oder Keton-Gruppe handelt. [82] Zusätzlich ist ein schwacher Ausschlag der N-H Einfachbindung des Vernetzers bei einer Wellenzahl von 3300 cm^{-1} zu erkennen. Der Vergleich der Nanopartikel-beladenen Gele mit dem unbeladenen Gel zeigt, dass durch die Nanopartikel scheinbar kein Einfluss auf die Polymerstruktur genommen wurde.

Poly-N-Vinylcaprolactam/Poly(ethylenglykol) methacrylat (PVCL/PEG-MA)

Wie bereits mehrfach geschildert (siehe Kapitel 6.2.2), bewirkt die Bildung des Mikrogels PVCL/AAEM eine starke Trübung der Lösung, welche vor allem den Laserabtrag beeinflusst. Als Alternative zu dieser Verbindung wurde zu dem Monomer N-Vinylcaprolactam (VCL) das Comonomer Poly(ethylenglykol) methacrylat (PEG-MA) (die Konzentrationen sind dem Experimentalteil zu entnehmen) hinzugegeben.

Zur Ermittlung der optimalen Konzentration an PEG-MA zur Stabilisierung der Nanopartikel (Zink-, Eisen-, Kupfer- und Gold-Nanopartikel) wurde diese variiert, angegeben im mol%-Verhältnis zur VCL-Konzentration von $0,025\text{ mol/l}$. Die Konzentration von VCL wurde auf ein Viertel der Konzentration, welche bei der Herstellung des Mikrogels verwendet wurde, reduziert, um dadurch ebenfalls eine Reduzierung der Trübung zu bewirken.

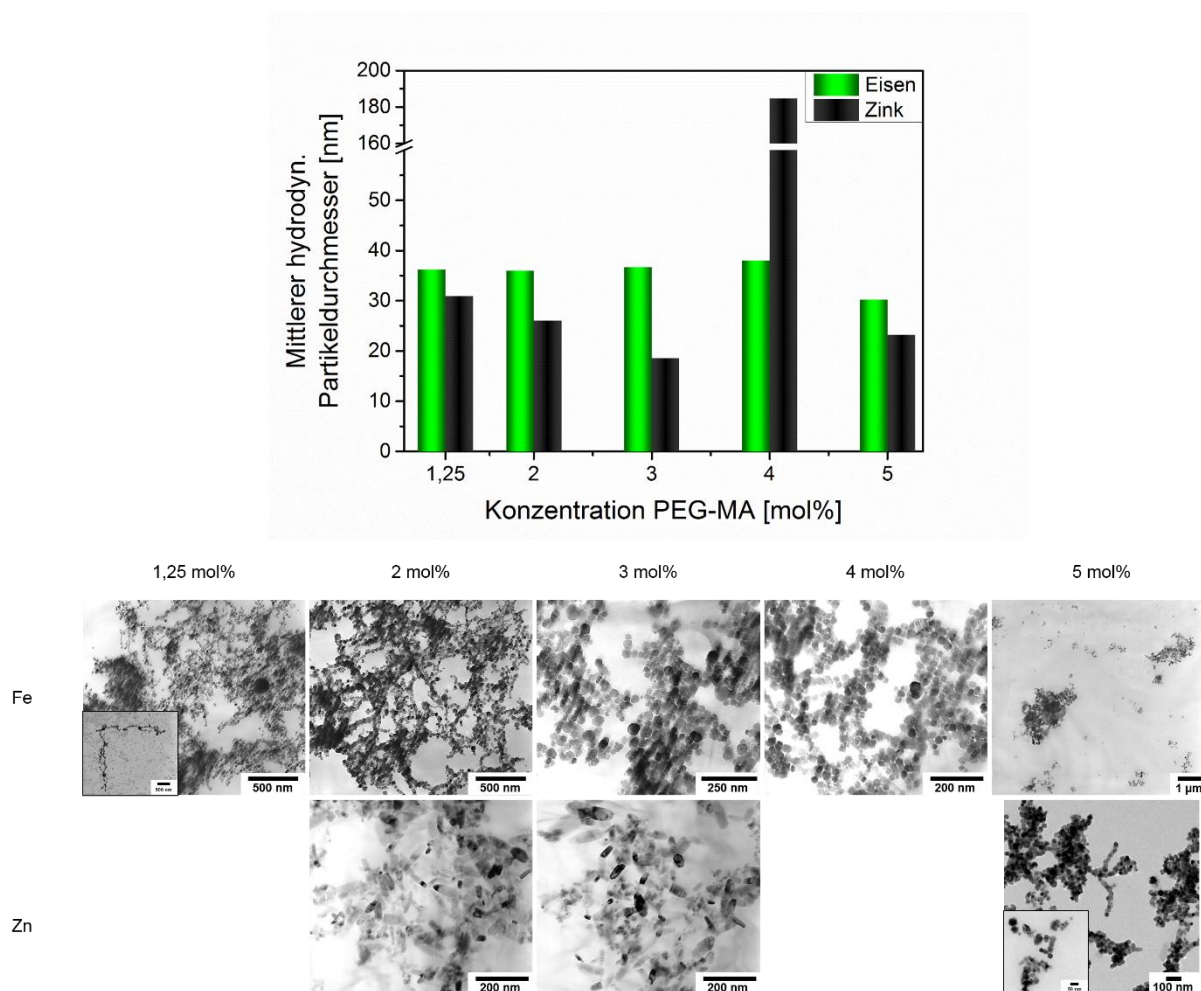


Abbildung 54: Mittlerer hydrodynamischer Partikeldurchmesser aus DLS-Messungen von PVCL/PEG-MA-Copolymeren beladen mit Zink- bzw. Eisen-Nanopartikeln bei unterschiedlichen PEG-MA-Konzentrationen und den dazugehörigen TEM-Aufnahmen.

Mit Ausnahme des Polymerdurchmessers bei einer PEG-MA-Konzentration von 4 mol% und einer Zink-Nanopartikel-Beladung, welcher als Ausreißer angesehen wird, beeinflusst die PEG-MA-Konzentration nur geringfügig die Copolymergröße. In der Literatur belegt ist die Reduzierung der Nanopartikelgröße durch die Erhöhung der eingesetzten Polymerkonzentration. [18] Da hier aber durch die dynamische Lichtstreuung nicht die eingebetteten Nanopartikel, sondern die Polymerhüllen gemessen wurden, müssen für eine Beurteilung der Nanopartikelgröße TEM-Aufnahmen hinzugezogen werden. Sowohl bei Eisen- als auch bei Zink-Nanopartikeln ist eine deutliche Reduzierung der Größe nicht zu erkennen (vgl. Anhang, Abbildung 32). Die Strukturen der aufgefundenen Nanopartikel lassen trotzdem Schlussfolgerungen zu. Die im Falle von Zink beobachtete Stäbchenform wurde bereits zuvor von Brayner *et al.* beobachtet und der Struktur von Zinkoxid (ZnO) zugeordnet. Die Forscher berichteten zudem, dass durch die Erhöhung des

Verhältnisses $n_{\text{H}_2\text{O}}/n_{\text{Zn}^{2+}}$ die Länge der Stäbchen zunimmt. [261] Je höher die PEG-MA-Konzentration wurde, desto weniger Wasser dringt in das Polymernetzwerk ein und gelangt an die Nanopartikel. Dies würde erklären, warum im Fall von 5 mol% PEG-MA keine Stäbchen mehr vorliegen, sondern nahezu sphärische Nanopartikel. Bei Eisen-Nanopartikeln wurden bei der geringsten PEG-MA-Konzentration Ketten von insgesamt mehreren Mikrometern Länge bestehend aus Nanopartikeln beobachtet. Dieser Effekt wurde schon zuvor für Fe_2O_3 Partikel mit Kettenlängen von 300-400 nm aus mehreren hundert Nanopartikeln berichtet. [262] Bei erhöhten PEG-MA-Konzentrationen werden diese Ketten nicht mehr beobachtet, sondern lediglich eine ungeordnete Agglomeration. Nachdem Fe_3O_4 eine kubische Kristallstruktur besitzt und Fe_2O_3 eine hexagonale [263], kann man anhand der TEM-Bilder lediglich mutmaßen, dass beide Oxide enthalten sind, da beide Geometrien zu erkennen sind. Eine genaue Unterscheidung in der Probe ist nicht möglich und wird später durch XRD-Analysen aufgeklärt.

Die Struktur des Copolymers wurde auch hier mittels IR-Spektroskopie untersucht.

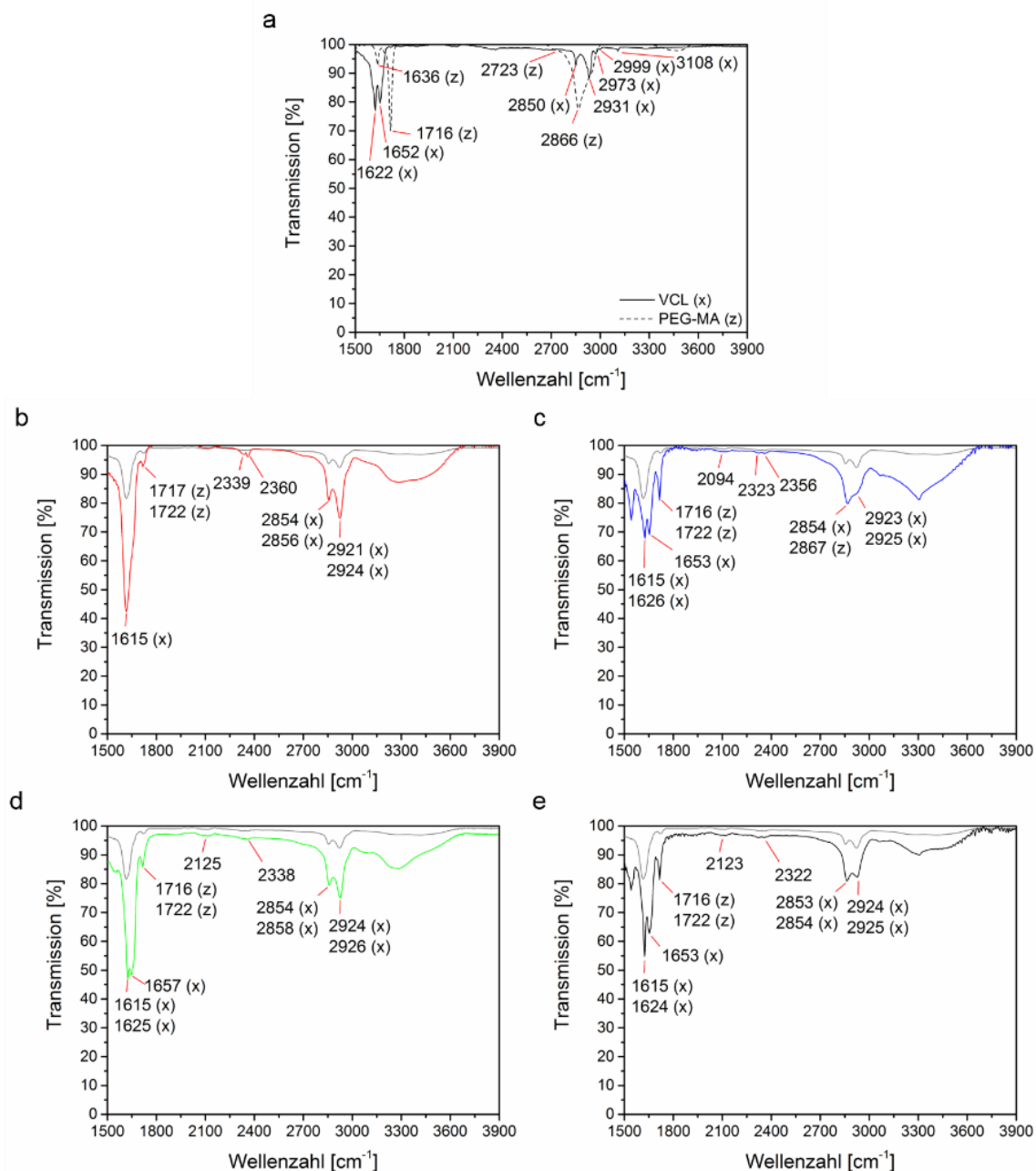


Abbildung 55: Infrarotspektren (IR-Spektren) der Monomere VCL und PEG-MA (a), PVCL/PEG-MA-Copolymer mit Gold-Nanopartikeln (rot) (b), PVCL/PEG-MA-Copolymer mit Kupfer-Nanopartikeln (blau) (c), PVCL/PEG-MA-Copolymer mit Eisen-Nanopartikeln (grün) (d) und PVCL/PEG-MA-Copolymer mit Zink-Nanopartikeln (schwarz) (e), jeweils im Vergleich zu einem unbeladenen PVCL/PEG-MA-Copolymer (grau).

Auch hier erkennt man in den Spektren des Polymers, unabhängig von der Nanopartikel-Beladung, die charakteristischen Banden von VCL bei 2850-2924 cm^{-1} für die C-H-Schwingung und 1614 cm^{-1} für die Amidgruppe. [82] [259] Des Weiteren ist hier die Bande der C=O Gruppe des PEG-MA im Bereich von 1717 cm^{-1} und die

Bande der N-H Gruppe des Vernetzers BIS bei 3300 cm^{-1} erkennbar. Die Nanopartikel zeigen erneut keine Beeinflussung der Polymerstruktur.

Für die Beantwortung der Frage, ob es sich bei dem hier hergestellten Copolymer nicht vielleicht auch um ein Mikrogel handeln könnte, wurden zum einen DLS-Messungen bei unterschiedlichen Temperaturen und zum anderen Cryo-TEM-Aufnahmen (bei Temperaturen von bis zu -196°C) angefertigt.

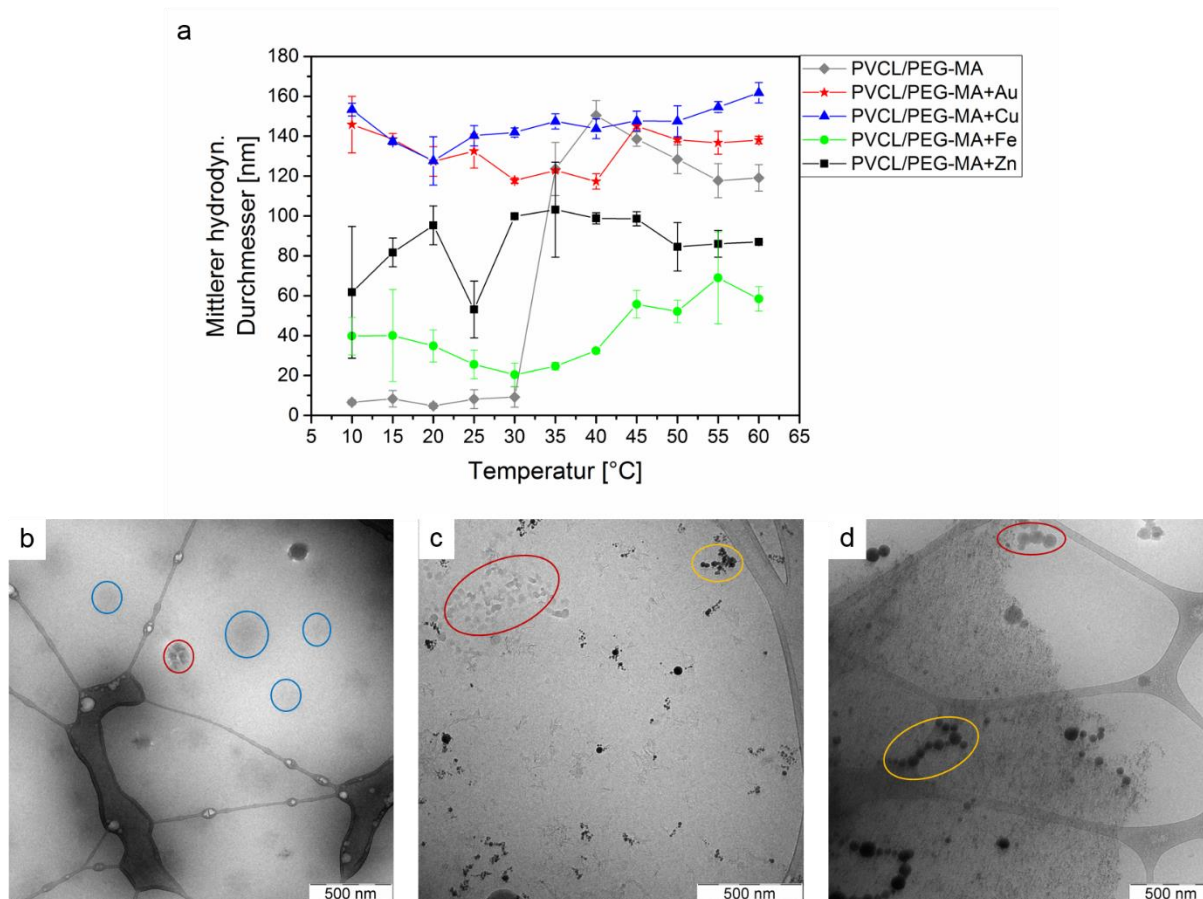


Abbildung 56: Mittlere hydrodynamische Durchmesser über DLS-Messungen in Abhängigkeit von der Temperatur (a). Cryo-TEM-Aufnahmen von unbeladenem PVCL/PEG-MA-Copolymer (b) und PVCL/PEG-MA-Copolymer beladen mit Gold-Nanopartikeln (c) bzw. Eisen-Nanopartikeln (d). Die blauen Markierungen kennzeichnen Mikrogel, rote Markierungen Eiskristalle und gelbe Kreise Nanopartikel. Die Herstellung der unbeladenen und Nanopartikel-beladenen Copolymere sowie die DLS-Messungen erfolgten durch M.Sc. Nina Million³², die Cryo-TEM-Aufnahmen wurden von M.Sc. Cathalina Molano³³ erstellt.

Bei der Größenmessung von Mikrogelen bei unterschiedlichen Temperaturen wird zunächst ein großer Durchmesser erwartet, da das Polymer bei niedrigen Temperaturen gequollen vorliegt. Bei Temperaturen über der Volumen-Phasenübergangs-Temperatur (engl.: volume phase transition temperature, VPTT)

³² Technische Chemie I, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Stephan Barcikowski

³³ DWI - Leibniz-Institut für Interaktive Materialien und RWTH Aachen Universität, Leitung: Prof. Dr. Andrij Pich

kollabiert das Gel und schrumpft. Dieses Verhalten konnte bereits für PVCL/HEA, PVCL/IA, PNIPAM und VCL/AAEM gezeigt werden mit VPTT für PVCL/IA und PVCL/HEA von 32 °C. [20] [264] [265] [266] Die Übergangstemperatur von etwa 32 °C ist auch für das hier gezeigte System wiedergefunden worden (vgl. Abb. 56 a). Allerdings ist der erwartete Verlauf nicht zu erkennen. Hier lag zunächst eine kollabierte Struktur vor, die bei höheren Temperaturen expandierte. Dies kann nicht erklärt werden, da auch die Cryo-TEM-Aufnahme des unbeladenen Copolymers Mikrogelstrukturen zeigt (vgl. Abb. 56 b), weshalb das Verhalten eines Mikrogels im DLS erwartet wurde. Die Beladung des Copolymers mit metallischen Nanopartikeln zeigte den Effekt, dass sich lediglich ein geringer Größenunterschied bei der Variation der Temperatur zeigte (vgl. Abb. 56 a). Auch in der Literatur ist belegt, dass eine hohe Nanopartikel-Beladung den Größenverlauf stark abflachen lässt und der Verlauf eines Mikrogels kaum zu erkennen ist. Dies geschieht aufgrund einer partiellen Ladungskompensation im Gel, resultierend in einer früheren hydrophoben Aggregation und damit eines früheren Zusammenbruchs des Netzwerks. [20] [266] Die Cryo-TEM-Aufnahmen der Nanopartikel-beladenen Copolymere zeigen jedoch keinerlei Mikrogelstrukturen (vgl. Abb. 56 d und e). Die Nanopartikel scheinen von einem Polymerfilm umgeben zu sein. Dadurch konnte nicht eindeutig geklärt werden, ob es sich hier tatsächlich um ein Mikrogel handelt, weshalb weiterhin die Bezeichnung „Copolymer“ verwendet wird.

Neben der Charakterisierung des Polymers wurde, wie bereits angemerkt, die Kristallstruktur der Nanopartikel mittels XRD-Analyse näher untersucht und daraus Rückschlüsse auf den Oxidationszustand gezogen.

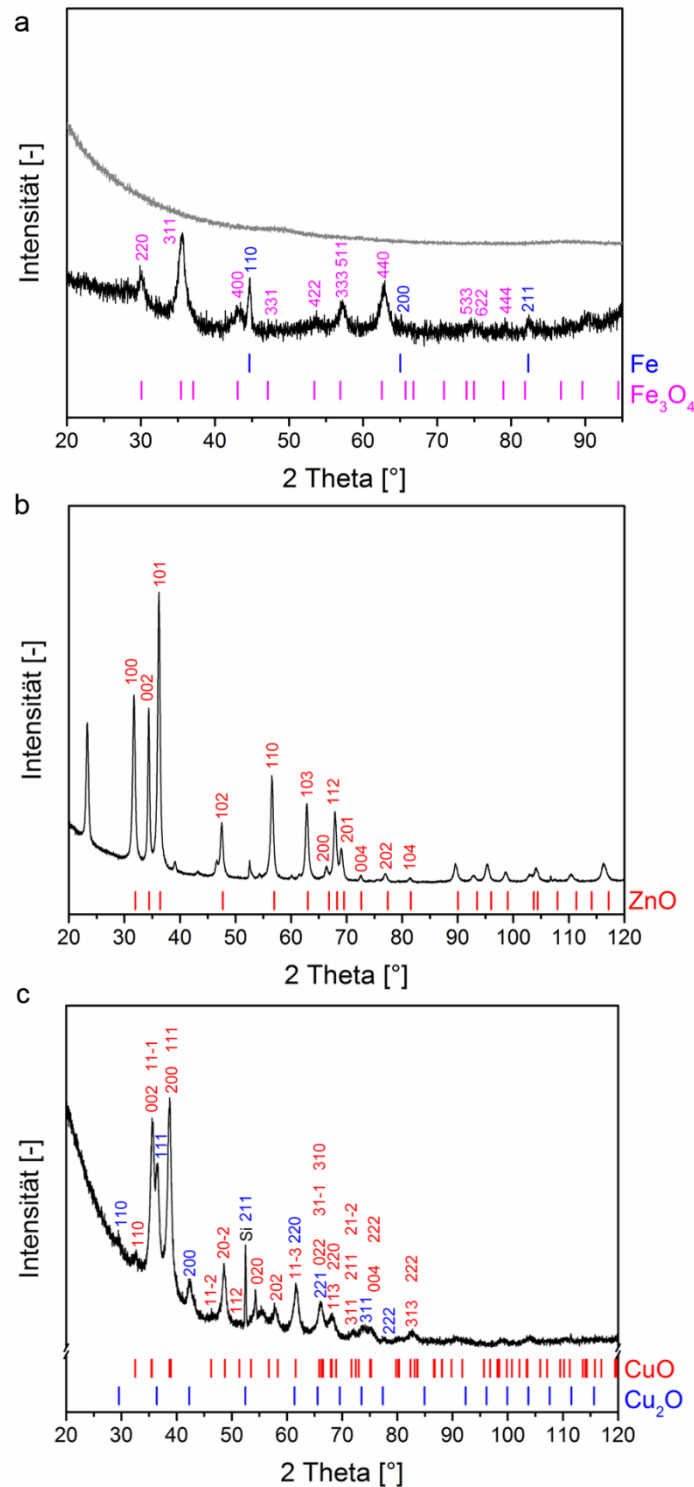


Abbildung 57: Röntgenbeugung (XRD) des unbeladenem PVCL/PEG-MA-Copolymers (grau) und Eisen-Nanopartikel-beladenem PVCL/PEG-MA (a) (Referenzen: ICSD-Nr. 76747 (Fe) und 26410 (Fe₃O₄)), Zink-Nanopartikel-beladenem PVCL/PEG-MA (b) (Referenzen: ICSD-Nr. 31052 (ZnO)) und Kupfer-Nanopartikel-beladenem PVCL/PEG-MA (c) (Referenzen: ICSD-Nr. 16025 (CuO) und 52043 (Cu₂O)).

Betrachtet man zunächst die Probe beladen mit Eisen-Nanopartikeln (vgl. Abb. 57 a), so wurden sowohl elementares, kubisches Eisen als auch kubisches Magnetit (Fe₃O₄) detektiert. Dabei fällt auf, dass das erhaltene Diffraktogramm nicht 100 %ig mit der

Strukturinformation übereinstimmt. Alle Peaks sind leicht nach rechts verschoben, was darauf hinweist, dass die Gitterkonstante leicht von der Strukturinformation abweicht. In den Proben mit Zink-Nanopartikeln wurden lediglich Zinkoxid (ZnO)-Nanopartikel in der hexagonalen Wurtzit-Struktur nachgewiesen. Das erhaltene Diffraktogramm enthält alle charakteristischen Peaks, unter anderem bei 32°, 34°, 36°, 48°, 57°, 63°, 67°, 68°, 70°, 73°, 77° und 82°. [162] [231] Die im Diffraktogramm (Abb. 57 b) nicht gekennzeichneten Reflexe, z.B. bei rund 39°, 43°, 54°, könnten zum Teil elementarem Zink zugeordnet werden, allerdings würden dafür weitere Reflexe, z.B. bei 70°, 71°, 82°, 84° und 87° fehlen (ICSD-Nr. 52259). Ohne diese Reflexe ist die Aussage, dass elementares Zink vorliegt, nicht haltbar. Bei Kupfer-Nanopartikeln (vgl. Abb. 57 c) können alle aufgenommenen Reflexe zugeordnet werden. Neben monoklinem Kupfer(II)-oxid (CuO) liegt Kupfer(I)-oxid (Cu₂O) in kubischer Kristallform [235] [240] vor.

Zusammenfassend wurden drei verschiedene Systeme hergestellt. Unter Verwendung von Poly-N-Vinylcaprolactam ohne Copolymer wurden Polymerfilme hergestellt, die zwar thermisch sehr stabil sind, jedoch die Nanopartikel nicht vollständig einbetten können. Der Zusatz des Comonomers AAEM resultiert in Mikrogelen, die die Nanopartikel vollständig einkapseln und bis zu 300°C stabil sind. Ein Nachteil dieses Copolymers ist jedoch die starke Trübung der Lösungen und die daraus resultierende Produktivitätsabnahme des Laserabtrags. Als Alternative wurden mit dem Comonomer PEG-MA-Copolymerfilme hergestellt, die erfolgreich die Nanopartikel einbetten und im gleichen Zug eine lediglich geringe Trübung beim Laserabtrag bieten. Die Bildung von Mikrogelen konnte nicht nachgewiesen werden, bzw. das System zeigte Unregelmäßigkeiten beim thermischen Quellen und Schrumpfen.

Durch die so erhaltenen Ergebnisse wurde beschlossen im Weiteren das System PVCL/PEG-MA zu verwenden. Dieses System soll mit Nanopartikeln beladen als Ionenfreisetzungssystem dienen. In Form von Wundauflagen sollen diese Komposite zur Wundheilung beitragen. Für diesen Anwendungsbereich muss das Nanopartikel-Polymer-Komposit zunächst zu Fasermatten verarbeitet werden, um eine oberflächliche Behandlung der Wunde durchführen zu können. Im Anschluss an das Elektrosplennen zu Fasern wurden die Freisetzungseigenschaften des Materials untersucht und hinsichtlich des genannten Anwendungsgebiets bewertet.

6.5 Einfluss der Materialformulierung auf die Ionenfreisetzung

6.5.1 Weiterverarbeitung mittels Elektrosponnen

Polymersysteme, die mit Nanopartikeln beladen sind, finden unter anderem Verwendung als Ionenquellen für verschiedene medizinische Anwendungen. Um Nanopartikel-beladene Polymere in eine geeignete Darreichungsform zu bringen, können verschiedenste Verarbeitungswege verwendet werden. In dem hier dargestellten Fall, werden die Polymere auf Fasern als Trägersysteme aufgebracht, um als oberflächliche Wundauflage dienen zu können. Dazu wird das Verfahren des Elektrosponnens verwendet. Durch Anlegen eines elektrischen Feldes wird ein Gemisch aus Fasermaterial und Nanopartikel-beladenem Polymer zu Fasern gesponnen, welche auf einem leitenden Untergrund gesammelt werden. Die Durchführung dieses Verfahrens wurde in einer Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Andrij Pich am DWI - Leibniz-Institut für Interaktive Materialien und RWTH Aachen Universität von Dr. Philipp Wilke und M.Sc. Catalina Molano umgesetzt, die auch die Charakterisierung der erstellten Fasern übernahmen (vgl. Abbildung 58).

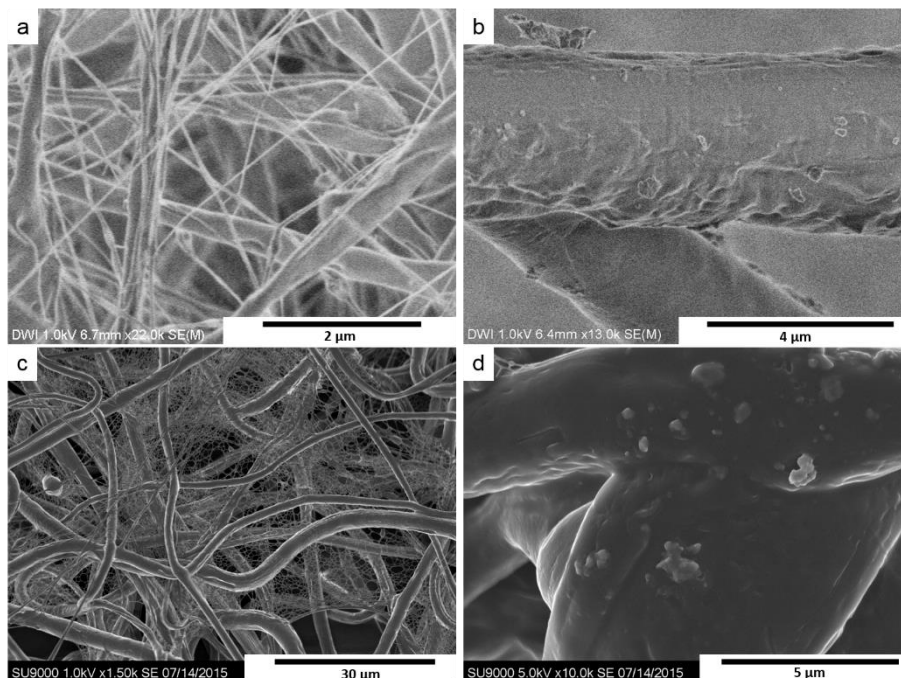


Abbildung 58: Feldemissions-Rasterelektronenmikroskopbilder (FESEM) von PCL Fasern, versponnen mit unbeladenen PVCL-Mikrogelen (a, b) und PVCL/PEG-MA- (5 mol%) Copolymer (c, d). Die Herstellung der Polymere erfolgte durch M.Sc. Nina Million³⁴. Das Verspinnen und die Untersuchung der Fasern mittels FESEM wurde von Dr. Philipp Wilke (a, b) und M.Sc. Catalina Molano³⁵ (c, d) durchgeführt.

³⁴ Technische Chemie I, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Stephan Barcikowski

³⁵ DWI - Leibniz-Institut für Interaktive Materialien und RWTH Aachen Universität, Leitung: Prof. Dr. Andrij Pich

Die in Abbildung 58 gezeigten Feldemissions-Rasterelektronenmikroskopie (FESEM)-Aufnahmen stellen PCL-Fasern dar, die mit unbeladenen Polymeren hergestellt wurden. Sowohl im Fall des Einzelpolymers PVCL, als auch mit dem Copolymer PVCL/PEG-MA (5 mol%) können dichte Netzwerke an Fasern hergestellt werden (Abb. 58 a und c). Dabei bildet das Fasermaterial PCL das Grundgerüst dieses Netzwerkes. Auf der Oberfläche jeder Faser erkennt man bei genauerer Betrachtung (Abb. 58 b und d) kleinere Inseln, welche aus dem verwendeten Polymer bzw. Copolymer bestehen. Diese Beobachtungen wurden auch in früheren Arbeiten mit PVCL-Itakonsäure-Mikrogelen auf PCL-Fasern beobachtet. [266] Die Anordnung der Mikrogele auf der Oberfläche der Faser resultiert aufgrund der Phasenseparation während der Aushärtung bei der Faserbildung. [265] Es zeigt, dass es mittels Elektrosponnen möglich ist potentielle polymere Ionenfreisetzungssysteme auf einem Trägermaterial in Form von Fasern zu immobilisieren.

Wie bereits in Kapitel 6.4 dargestellt, soll das Copolymer PVCL/PEG-MA als Nanopartikel-Träger dienen. Die Zusammensetzung dieser Copolymerformulierung beeinflusst nicht nur die Eigenschaften der Dispersion, wie zum Beispiel die Größe der Polymerstruktur und die Stabilität der Nanopartikel, sondern auch das Resultat der Weiterverarbeitung durch Elektrosponnen. Daher wurden verschiedene Copolymerzusammensetzungen, beladen mit Zink-Nanopartikeln konstanter Masse, zu Fasern versponnen und mittels TEM untersucht (vgl. Abb. 59). Dabei wurde die Konzentration an VCL konstant gehalten und der Anteil an PEG-MA im Molverhältnis zu VCL variiert.

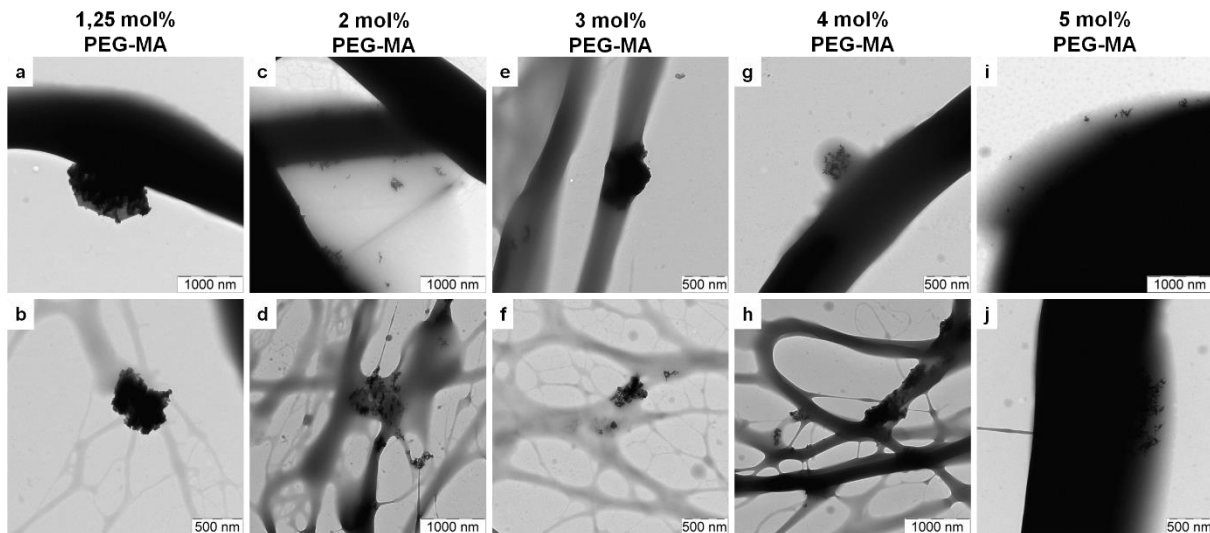


Abbildung 59: Transmissionselektronenmikroskopbilder (TEM) von PCL-Fasern, welche mit PVCL/PEG-MA-Copolymeren beladen mit Zink-Nanopartikeln versponnen wurden. Die Herstellung der Polymere erfolgte durch M.Sc. Nina Million³⁶. Das Verspinnen und die Untersuchung der Fasern mittels TEM wurde von Dr. Philipp Wilke³⁷ durchgeführt.

In allen Fällen ist eine Herstellung von Fasern generell möglich. In Konzentrationen von 1,25 bis 4 mol% PEG-MA sind Fasern zu finden, auf deren Oberfläche die Nanopartikel-beladenen Copolymere lokalisiert sind (vgl. Abb. 59 a, c, g und e). Allerdings ist eine starke Agglomeration der Nanopartikel zu beobachten und einige Polymerstrukturen mit Nanopartikeln liegen ungebunden zwischen den Fasern vor (vgl. Abb. 59 b, d, f und h). Dies könnte auf eine nicht ausreichende Stabilisierung der Nanopartikel durch die Polymermatrix hindeuten. Für eine Konzentration von 5 mol% PEG-MA können diese freien Strukturen nicht gefunden werden. Das Copolymer bildet eine Schicht auf der Oberfläche der Faser und beinhaltet die Nanopartikel in Form von homogen verteilten kleinen Agglomeraten (vgl. Abb. 59 i und j), wie es auch schon mit chemisch synthetisierten Zink-Nanopartikeln in PVCL-Itakonsäure-Mikrogelen auf PCL-Fasern gezeigt werden konnte. [266] Diese homogene Schicht aus Nanopartikel-beladenen Copolymeren auf der Oberfläche der Fasern konnte auch mit Eisen-Nanopartikeln reproduziert werden (vgl. Abb. 60). Daher stellt das Copolymer aus 3,33 g/l VCL, 3 mol% BIS (bezogen auf VCL) und 5 mol% PEG-MA (bezogen auf VCL) die optimale Zusammensetzung zum Verspinnen des Kompositmaterials dar.

³⁶ Technische Chemie I, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Stephan Barcikowski

³⁷ DWI - Leibniz-Institut für Interaktive Materialien und RWTH Aachen Universität, Leitung: Prof. Dr. Andriy Pich

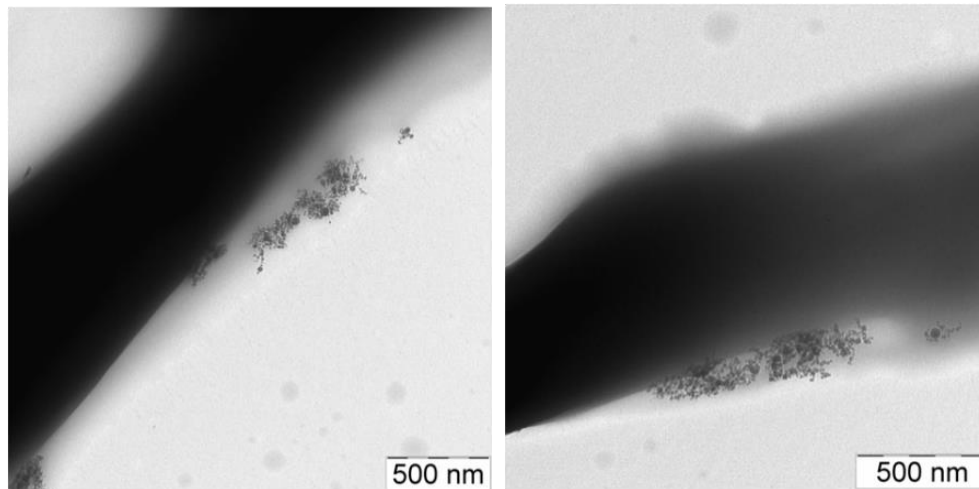


Abbildung 60: Transmissionselektronenmikroskopbilder (TEM) von PCL Fasern, versponnen mit PVCL/PEG-MA- (5 mol%) Copolymeren beladen mit Eisen-Nanopartikeln. Die Herstellung der Polymere erfolgte durch M.Sc. Nina Million³⁸. Das Verspinnen und die Untersuchung der Fasern mittels TEM wurde von Dr. Philipp Wilke³⁹ durchgeführt.

Nachdem eine erfolgreiche Weiterverarbeitung der Nanopartikel-beladenen Copolymere zu Fasern erzielt wurde, wurden diese mit unterschiedlichen Nanopartikeltypen und Massenbeladungen auf ihr Freisetzungsverhalten untersucht.

6.5.2 Variation der Beladung

Um die Freisetzung der Nanopartikel-Polymer-Komposite unter anwendungsnahen Bedingungen testen zu können, mussten diese, wie bereits in Kapitel 6.5.1 dargestellt, zu Fasern versponnen werden. Als leitendes Material, auf dem die entstehenden Fasern gesammelt wurden, diente handelsübliche Aluminiumfolie. Da der Kontakt zwischen der Faser und der Folie dazu führen könnte, dass in der Aluminiumfolie enthaltene Metallbestandteile, wie zum Beispiel Eisen oder Zink, die zu bestimmenden Metallionenkonzentrationen verfälschen könnten, wurde die verwendete Folie mittels Energiedispersiver Röntgenspektroskopie (EDX) auf ihre Bestandteile analysiert.

³⁸ Technische Chemie I, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Stephan Barcikowski

³⁹ DWI - Leibniz-Institut für Interaktive Materialien und RWTH Aachen Universität, Leitung: Prof. Dr. Andrij Pich

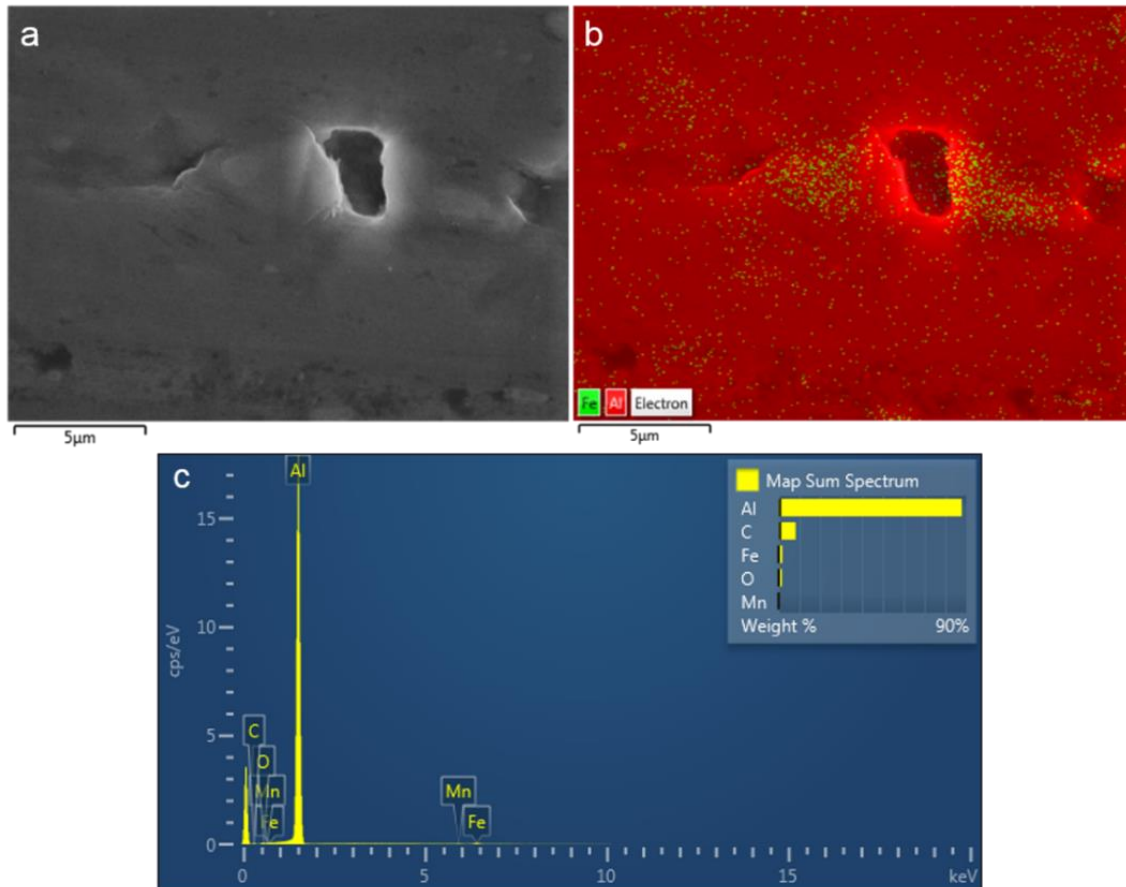


Abbildung 61: Energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDX) von Aluminiumfolie, die zum Elektrosplennen verwendet wird. Zur Unterstützung der REM-Aufnahmen (a) wurde eine EDX-Analyse (b) angefertigt und inklusive des zugehörigen Elementspektrums (c) dargestellt. Die Messung, sowie deren Auswertung wurden von M.Sc. Catalina Molano⁴⁰ durchgeführt.

Anhand der EDX-Messung in Abbildung 61 ist zu erkennen, dass die Folie hauptsächlich aus Aluminium besteht (rot dargestellt) und nur ein geringfügiges Signal für Eisen (grün dargestellt) erkennbar ist. Zink ist nicht enthalten. Eine quantitative Bestimmung des Eisenanteils ist aus der EDX-Messung jedoch nicht möglich. Daher wurde zur Überprüfung der Verwendungseignung der Aluminiumfolie ein unbeladenes Copolymer, bestehend aus PVCL/PEG-MA, versponnen, mittels Elektronenmikroskopie und EDX charakterisiert und auf seine Ionenfreisetzung getestet.

⁴⁰ DWI - Leibniz-Institut für Interaktive Materialien und RWTH Aachen Universität, Leitung: Prof. Dr. Andrij Pich

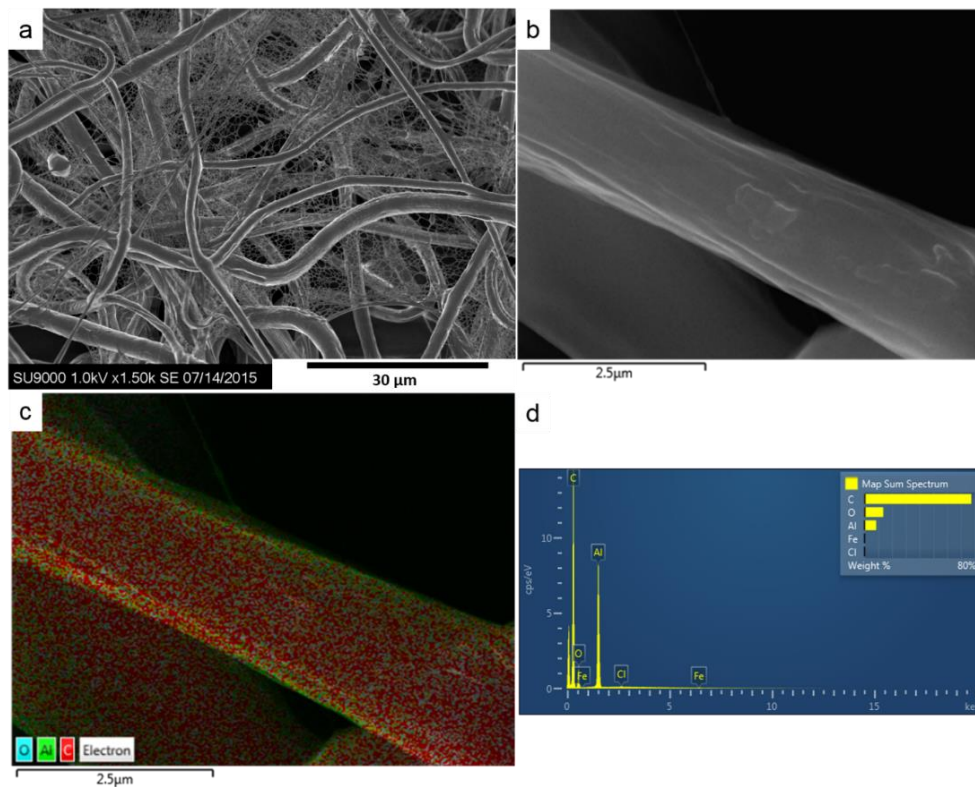


Abbildung 62: Charakterisierung von Fasern mit unbeladenem PVCL/PEG-MA-Copolymer. FESEM-Aufnahme des Fasernetzwerks (a) und REM-Aufnahme einer einzelnen Faser (b), welche mittels EDX auf ihre Bestandteile untersucht wurde (c, d). Die Herstellung des Copolymers erfolgte durch M.Sc. Nina Million⁴¹, das Elektrospinnen, die REM- und EDX-Analysen, sowie deren Auswertung wurden von M.Sc. Catalina Molano⁴² durchgeführt.

Die Untersuchungen der unbeladenen Faser mittels FESEM und REM zeigen erneut die erfolgreiche Herstellung von Fasern, die mit Polymer auf ihrer Oberfläche beschichtet sind (vgl. Abb. 62 b). Die Elementanalyse in Abbildung 62 c zeigt, dass die Faser aus Sauerstoff (cyan dargestellt) und Kohlenstoff (rot dargestellt) besteht, was über die verwendeten Polymere zur erklären ist, die hauptsächlich aus Kohlenstoff und Sauerstoff bestehen. Ebenfalls zu erkennen ist ein starkes Signal für Aluminium (grün dargestellt), was auf die Probenpräparation zurückgeführt werden kann. Die Fasern wurden auch für die Analysen mittels Mikroskopie auf Aluminiumfolie gesponnen, welche vor der Untersuchung nicht entfernt wurde, wodurch Aluminium auf den Aufnahmen als Hintergrundsignal deutlich zu erkennen ist. Es zeigt sich, dass das Referenzsystem keine signifikanten Mengen an Eisen, Kupfer und Zink enthielt.

Für die Testung der Ionenfreisetzung der Fasern wurden diese, wie in Kapitel 5.3 beschrieben, von der Aluminiumfolie gelöst, über einen Zeitraum von 105 Stunden mit

⁴¹ Technische Chemie I, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Stephan Barcikowski

⁴² DWI - Leibniz-Institut für Interaktive Materialien und RWTH Aachen Universität, Leitung: Prof. Dr. Andrij Pich

konstanten Probenahmezeiten in PIPES inkubiert und die Eluate mittels ICP-MS analysiert.

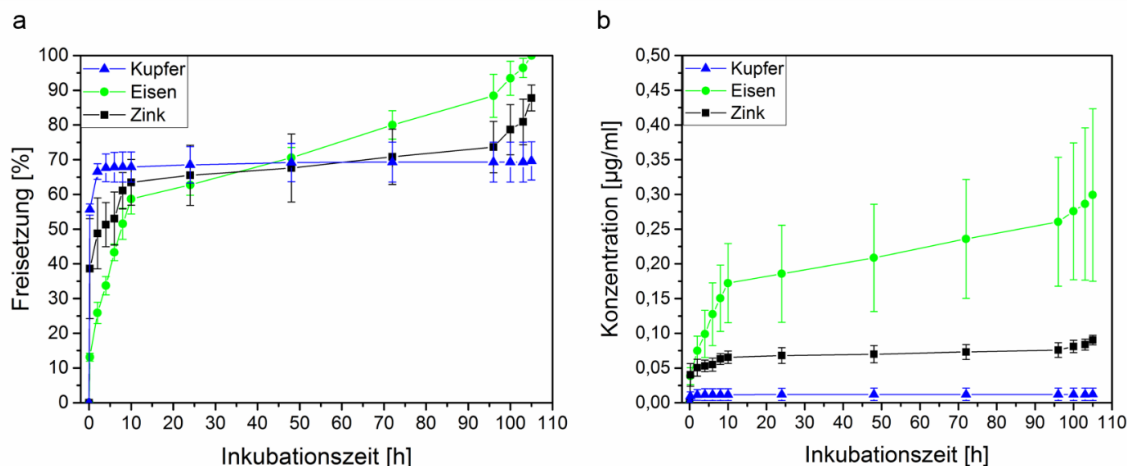


Abbildung 63: Kumulative Ionenfreisetzung aus einer Faser mit unbeladenem PVCL/PEG-MA-Copolymer. Darstellung der prozentualen Freisetzung (a) und der Freisetzungskonzentration (b). Die Herstellung des Copolymers und die Durchführung der Ionenfreisetzungstests erfolgte durch M.Sc. Nina Million⁴³, das Elektrosponnen wurde von M.Sc. Catalina Molano⁴⁴ durchgeführt. Die ICP-MS-Analyse wurde in Zusammenarbeit mit Dr. Milen Nachev⁴⁵ durchgeführt.

Abbildung 63 zeigt, dass aus der unbeladenen Faser nur Spuren von Zink- und Kupferionen im unteren Pikogrammbereich freigesetzt wurden. Lediglich die Messung von Eisenionen zeigt eine Freisetzung von bis zu maximal 300 pg. Diese Werte entsprechen einer Beladung der Faser von 0,0007 wt% Kupfer (entspricht $1,661 \cdot 10^{-5}$ mg), 0,004 wt% Zink (entspricht $1,019 \cdot 10^{-4}$ mg) und 0,01 wt% Eisen (entspricht $2,956 \cdot 10^{-4}$ mg). Die mögliche Beeinflussung der Freisetzungsuntersuchungen der mit Nanopartikel-beladenen Fasern ist daher als minimal und damit als vernachlässigbar anzusehen. Auch alle weiteren Experimente wurden mit Fasern, die auf Aluminiumfolie gesponnen wurden, durchgeführt.

Um den Einfluss der Beladung der Faser auf die Ionenfreisetzung beurteilen zu können, wurden Copolymere wie vorher beschrieben mit Eisen-, Kupfer- oder Zink-Nanopartikeln unterschiedlicher Massenbeladungen beladen und zu Fasern versponnen. Die homogene Verteilung der Nanopartikel auf der Oberfläche der gesamten Faser konnte hier reproduziert und mittels EDX-Messungen validiert werden (vgl. Abb. 64).

⁴³ Technische Chemie I, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Stephan Barcikowski

⁴⁴ DWI - Leibniz-Institut für Interaktive Materialien und RWTH Aachen Universität, Leitung: Prof. Dr. Andrij Pich

⁴⁵ Aquatische Ökologie, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Bernd Sures

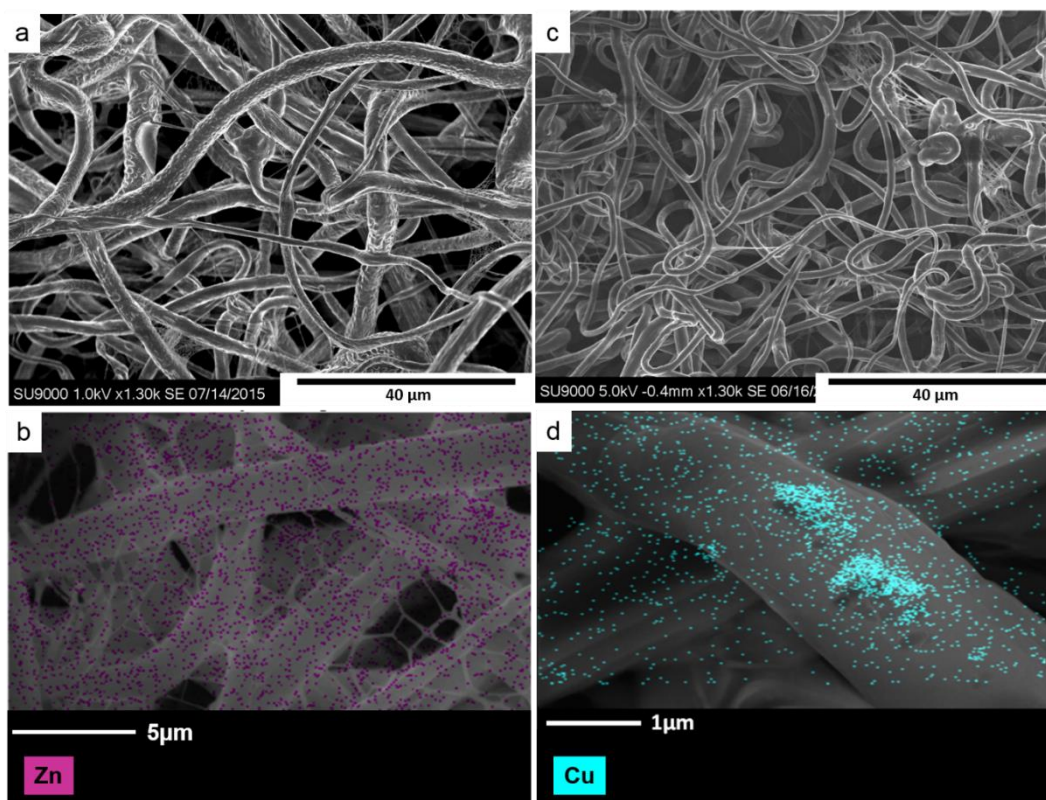


Abbildung 64: Charakterisierung von Fasern mit PVCL/PEG-MA-Copolymer, beladen mit Zink- (0,58 wt% auf der Faser) (a und b) bzw. Kupfer- (0,62 wt% auf der Faser) (c und d) Nanopartikeln. a und c zeigen eine FESEM-Aufnahme des Fasernetzwerks, b und d stellen die REM-Aufnahmen inklusive der EDX-Mapping einer einzelnen Faser dar. Die Herstellung des Copolymers erfolgte durch M.Sc. Nina Million⁴⁶, die FESEM, REM und EDX-Messung, sowie deren Auswertung wurden von M.Sc. Catalina Molano⁴⁷ durchgeführt.

Die Fasern, welche mit Zink- und Kupfer-Nanopartikeln beladen wurden, zeigen eine homogene Verteilung von Nanopartikeln auf der gesamten Faseroberfläche. Bei Kupfer-beladenen Fasern kann zudem eine geringfügige Akkumulation von Nanopartikeln auf der Oberfläche beobachtet werden (vgl. Abb. 64 d). Die Ergebnisse der mittels ICP-MS analysierten Freisetzungen sind in Abbildung 65 dargestellt. Jede der getesteten Fasern wurde mit Copolymeren, beladen mit unterschiedlichen Konzentrationen an Nanopartikeln aus jeweils nur einem Element, versponnen und über einen Zeitraum von insgesamt 105 Stunden inkubiert und die Eluate von definierten Zeitpunkten analysiert. Die kumulativ freigesetzte Menge an Ionen im Verhältnis zur Gesamtbeladung in Prozent ist in Abbildung 65 a, c und e, inklusive der Regression der ermittelten Freisetzungskinetik, dargestellt, die Abbildungen 65 b, d und f zeigen die resultierende Konzentration in µg/ml.

⁴⁶ Technische Chemie I, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Stephan Barcikowski

⁴⁷ DWI - Leibniz-Institut für Interaktive Materialien und RWTH Aachen Universität, Leitung: Prof. Dr. Andriy Pich

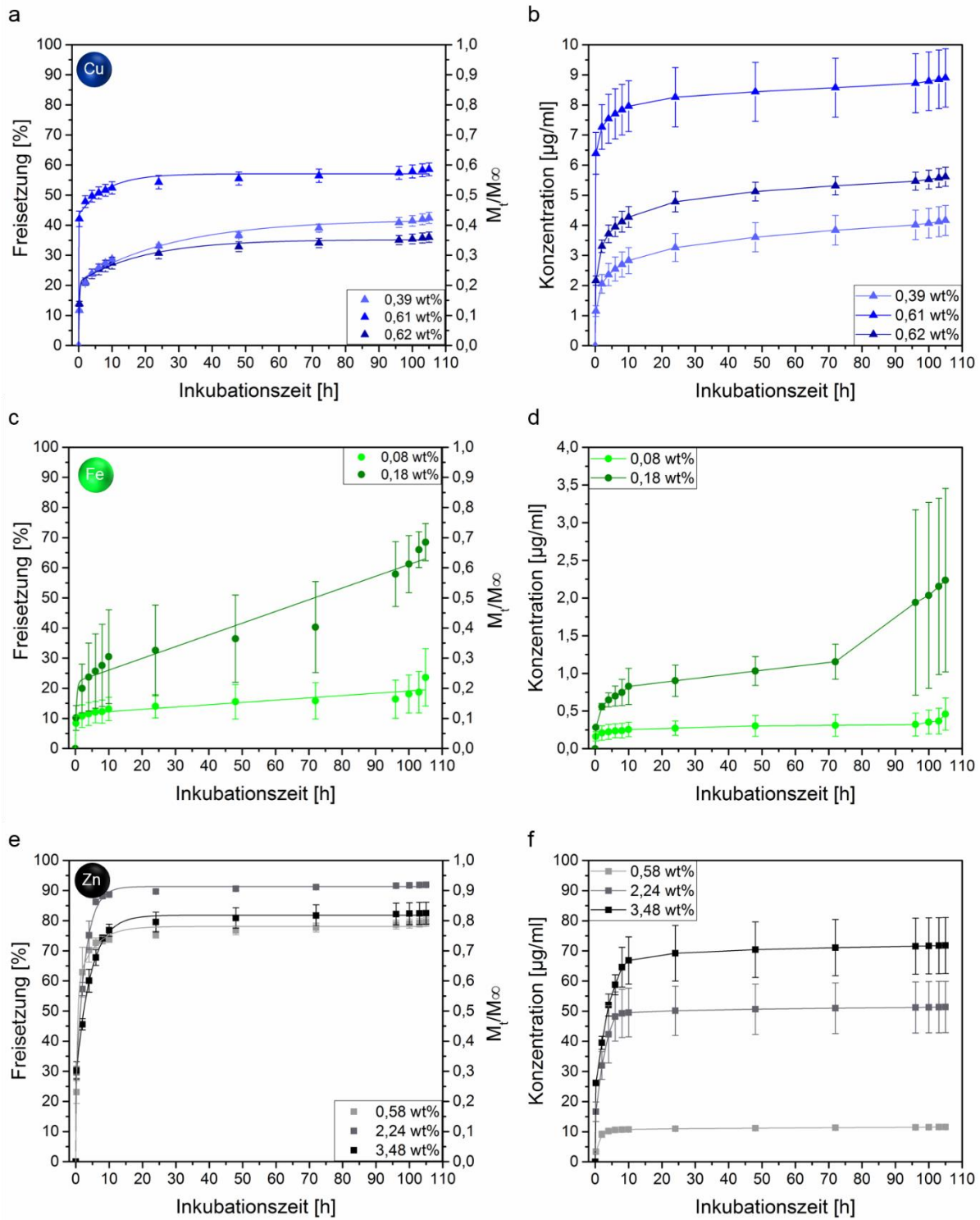


Abbildung 65: Kumulative Ionenfreisetzung aus Fasern mit PVCL/PEG-MA-Copolymer, beladen mit Kupfer-Nanopartikeln (a, b), Eisen-Nanopartikeln (c, d) bzw. Zink-Nanopartikeln (e, f) in Abhängigkeit von der Beladung. Die Herstellung des Copolymers und die Durchführung der Ionenfreisetzungstests erfolgte durch M.Sc. Nina Million⁴⁸, das Elektrosplennen wurde von M.Sc. Catalina Molano⁴⁹ durchgeführt. Die ICP-MS-Analyse wurde in Zusammenarbeit mit Dr. Milen Nachev⁵⁰ durchgeführt.

⁴⁸ Technische Chemie I, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Stephan Barcikowski

⁴⁹ DWI - Leibniz-Institut für Interaktive Materialien und RWTH Aachen Universität, Leitung: Prof. Dr. Andrij Pich

⁵⁰ Aquatische Ökologie, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Bernd Sures

Es ist für alle Elemente deutlich zu erkennen, dass innerhalb der ersten zehn Stunden der Hauptanteil der Ionen freigesetzt wird. Nach diesem zunächst stattfindenden „Burst-Release“ [110] erfolgt schnell eine Sättigung. Der hauptsächlich bei Eisen auftretende erneute Anstieg nach etwa 72 Stunden resultiert aus einer Zunahme der Probenfrequenz. Im Zeitraum von 72-105 Stunden wurden mehr Proben als zuvor genommen, wobei bei jeder Probennahme das Medium vollständig erneuert wurde. Dadurch wurde der Konzentrationsgradient stetig erneuert und dies bewirkt den erkennbaren Freisetzungsanstieg. Wie u.a. bereits bei Wilke *et al.* gezeigt wurde, ist für eine zunehmende Beladung mit Nanopartikeln eine höhere Ionenkonzentration zu erwarten. [110] [121] [266] [267] Ebenso sollte eine höhere Beladung zu einer prozentual niedrigeren Freisetzung führen [266], da ein größeres Freisetzungsdepot im Komposit vorhanden ist. Diese Trends lassen sich in den hier gezeigten Daten nur bedingt wiederfinden. Im Fall von Zink- und Eisenionen ist eine höhere Konzentration bei zunehmender Beladung erkennbar. Beim Verlauf der Kupfer-beladenen Fasern ist auffällig, dass trotz ähnlicher Massenbeladung (0,61 wt% und 0,62 wt%) starke Unterschiede im Freisetzungsverhalten beobachtet werden, die nicht erklärt werden können. Die prozentuale Freisetzung enthält für jedes Element Abweichungen vom erwarteten Verlauf. Der Verlauf der Zink-beladenen Faser von 0,58 wt% sowie die der Kupfer-beladenen Faser mit 0,39 wt% und Eisen-beladenen Faser mit 0,08 wt% müssten laut Literaturannahmen am höchsten liegen, was jedoch nicht der Fall ist. Die Verschiebung der Lage der prozentualen Freisetzung kann durch Nanopartikel, welche in der Faser zurückgeblieben sind, verursacht worden sein. Nach der Freisetzung wurde die Restbeladung in der Faser bestimmt, die nicht im Laufe des Experiments freigesetzt wurde, um die prozentuale Freisetzung bestimmen zu können. Die Restbeladung im Falle der geringsten Beladungen war so hoch im Verhältnis zur freigesetzten Menge, dass die prozentuale Freisetzung geringer ausfiel als erwartet. Dieser Effekt wird bedingt durch Kittler *et al.* unterstützt, die anhand von Silber-Nanopartikeln in PVP nachwiesen, dass die Partikel sich bei der Freisetzung niemals vollständig auflösen. Dabei wurde jedoch auch gezeigt, dass die Restbeladung nicht abhängig ist von der Absolutkonzentration der Nanopartikel. [119] Dies bedeutet, dass der beobachtete Effekt nur zufällig bei den geringsten Beladungen auftrat. Bei der Bestimmung der Freisetzungskinetik wurden verschiedene Modelle, welche auch bereits in Kapitel 2.2.2 eingeführt wurden, auf die erhaltenen Daten angewandt. Keines der Modelle (Higuchi, Korsmeyer-Peppas) beschrieb die hier gezeigte Freisetzung für

den vollen Inkubationszeitraum (siehe Anhang, Abbildung 41-43). Eine Regression der Daten nach der Kinetik erster Ordnung (siehe Gl. 2, Kapitel 2.2.2) beschrieb den Verlauf im Bereich von 0 h bis etwa 10-24 h sehr gut, wich nach diesem Zeitraum aber von den Datenpunkten ab. Die Kinetik zweiter Ordnung wurde in Anlehnung an die Gleichung erster Ordnung angefertigt und beschreibt im vollen Umfang die hier gezeigte Freisetzung (vgl. Abb. 65 a, c und e), mit Ausnahme kleiner Abweichungen bei längeren Inkubationszeiten für Eisen (Abb. 65 c). Daraus lässt sich schlussfolgern, dass innerhalb der ersten 24 h die Diffusion verantwortlich ist für die Freisetzung der Ionen aus dem Komposit. Danach ist jedoch die Oxidation und Zersetzung der Nanopartikel der geschwindigkeitsbestimmende Schritt, wie es auch schon von Hahn *et al.* bei der Freisetzung von Silber- und Kupferionen aus einem Silikon-Komposit beobachtet wurde. [111]

Die Freisetzung der Ionen aus Nanopartikeln wird zunächst von der Diffusion des Lösungsmittels im Komposit beeinflusst, welches durch Kanäle zum und vom Partikel diffundieren muss. [110] [121] Diese Kanäle können zum einen aus den bereits vorhandenen Poren der Netzwerkstruktur des Polymers bestehen oder sind Migrationspfade von bereits freigesetzten Ionen und korrodierten Nanopartikeln. [110] Ein stattfindender „Burst-Release“ zu Beginn des Experiments wurde von Cai *et al.* auf Nanopartikel auf der Kompositoberfläche zurückgeführt, welche direkt ins Lösungsmittel übergehen. [110] Durch die vollständige Einbettung der Nanopartikel im Copolymer, welches auf der Faseroberfläche immobilisiert wurde, und einem zusätzlichen Waschschrift vor der eigentlichen Testung der Freisetzung, kann diese Hypothese ausgeschlossen werden. Vielmehr findet die erste Freisetzung aus Nanopartikeln nahe der Grenzfläche Polymer-Medium statt, da dort der Diffusionsweg äußerst gering ist und eine schnellere Diffusion aus dem Polymer ermöglicht wird. [17] [121] Erst im späteren Verlauf des Experiments beginnt die Freisetzung der Ionen aus den Nanopartikeln, welche tiefer im Komposit liegen und somit einen längeren Diffusionsweg haben. [17] [121] Dadurch reduziert sich die zunächst schnelle Freisetzung (vgl. Abb. 65). Diese Reduzierung kann außerdem durch eine Passivierungsschicht, z.B. einer Oxidschicht, auf der Oberfläche der Nanopartikel verursacht werden, wodurch die weitere Korrosion verringert oder vollständig verhindert wird. [111] Ist die Diffusion nicht gehindert, so hängt die Freisetzung bei längerer Testungsdauer von der Oxidation und Zersetzung des Nanopartikels ab. Die Oxidationsfähigkeit eines Metalls kann anhand der elektrochemischen

Spannungsreihe beurteilt werden. Für die hier verwendeten Elemente gelten folgende Standardpotentiale (E°): [268]



Es gilt, dass je negativer das Standardpotential ist, desto einfacher oxidiert das Metall. Bei jedem Element ist es davon abhängig in welchem Oxidationszustand das Metall vorliegt. Die unterschiedliche Oxidationsfähigkeit verschiedener Metalloxid-Zustände führt dazu, dass die Nanopartikel in unterschiedlicher Geschwindigkeit freigesetzt werden, was eine Langzeitfreisetzung begünstigt. Anhand der Oxidationsneigung ist es einfach zu erklären, dass Zink am schnellsten freigesetzt wird, gefolgt von Eisen und zuletzt Kupfer (vgl. Abb. 65). Einen zusätzlichen Einfluss auf die Freisetzung stellt die Partikelgröße dar. Je kleiner die Partikel sind, desto größer ist ihre Oberfläche und umso höher ist die Freisetzung. [114] [116] Dabei ist zu beachten, dass die Agglomeratbildung eine Reduzierung der Freisetzung bewirkt, da aufgrund einer negativen Krümmung zwischen den Partikeln die Löslichkeit herabgesetzt wird. [114] Wie in Kapitel 6.4 auf den TEM-Aufnahmen gezeigt wurde, liegen hier keine einheitlichen Partikelgrößen vor, sondern eine Verteilung aus großen und kleinen Partikeln, die in Agglomeraten angeordnet sind. Durch die Kombination aller genannten Effekte kann eine Freisetzung von Metallionen aus Nanopartikeln über einen längeren Zeitraum gewährleistet werden.

In dem hier gezeigten Versuch konnte erfolgreich nachgewiesen werden, dass eine Langzeitfreisetzung aller drei verwendeten Elemente umgesetzt werden konnte, bei der die freigesetzte Ionenkonzentration über die Beladung eingestellt werden kann.

Im nächsten Schritt wurden Kombinationen aus Nanopartikel-Elementen in ein Copolymer eingebettet, versponnen und auf ihr Freisetzungsverhalten untersucht. Das

Ziel dieser Studie ist die Möglichkeit eine Wunde mit einer Faser mit mehreren notwendigen Ionen versorgen zu können.

6.5.3 Multielemente

Neben einzelnen Elementen, die über einen längeren Zeitraum freigesetzt werden, gibt es medizinische Anwendungen, bei denen die Abgabe von Elementkombinationen wünschenswert ist. Zur Herstellung solcher Freisetzungssysteme wurden mehrere Elemente in ein Copolymer eingebracht. Dabei waren zu Beginn der Versuche drei Herstellungsansätze denkbar. Eine Vereinigung von zwei Polymerlösungen mit jeweils einem Element kam nicht weiter in Frage, da in diesem Fall die resultierende Beladung jedes Elements im Copolymer, aufgrund der doppelten Menge an Polymer, sehr gering ausfiel. Der zweite Ansatz bestand darin, die beiden unterschiedlichen Elementtargets nebeneinander in der Abtragskammer zu befestigen. Dieser Ansatz war zwar erfolgreich, wurde aber als nicht reproduzierbar eingestuft, da die Targets nicht bei jedem Ansatz identisch befestigt werden konnten und die Gefahr zu groß war, dass die Targets durch die Flüssigkeitsbewegung verrutschen, wodurch Aluminium der Kammer abgetragen würde, oder die Targets vollständig abfallen könnten. Daher wurde zur Herstellung die dritte Variante gewählt, bei der zunächst ein Element in der Polymerlösung für eine gewisse Zeit abgetragen wurde, das Target dann gegen ein weiteres Element ausgetauscht und in der gleichen Lösung das zweite Element abgetragen wurde.

Die Weiterverarbeitung der so hergestellten Nanopartikel-Polymer-Komposite erfolgte wie zuvor beschrieben. Die hergestellten Fasern wurden zur Beurteilung der Elementverteilung auf der Faseroberfläche mittels FESEM, REM und EDX analysiert. Abbildung 66 zeigt dies für ein Komposit, beladen mit Kupfer- und Zink-Nanopartikeln.

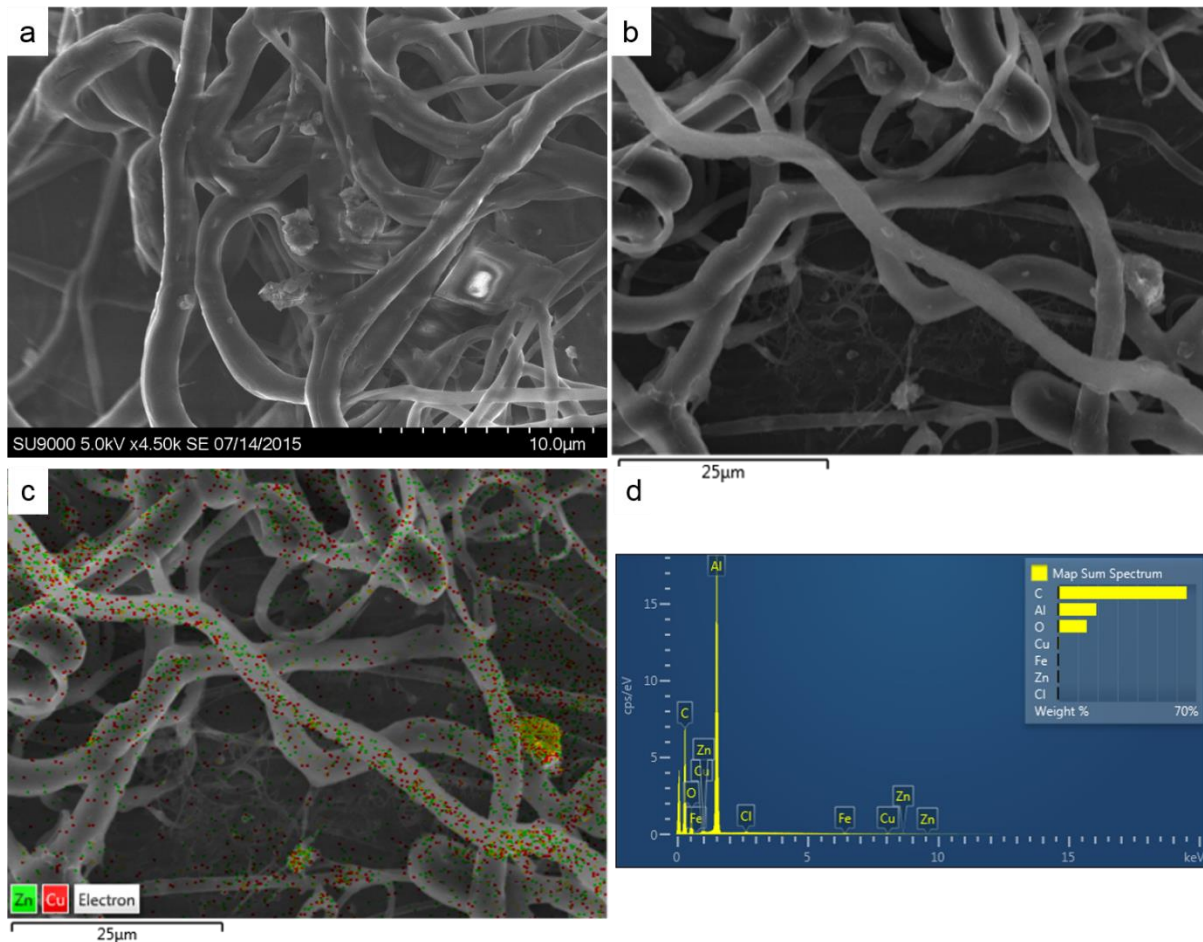


Abbildung 66: Charakterisierung von Fasern mit PVCL/PEG-MA-Copolymer, beladen mit Kupfer- und Zink- (0,71 wt% Cu und 0,42 wt% Zn auf der Faser) Nanopartikeln. FESEM- (a) und REM-Aufnahmen (b) zeigen das hergestellte Fasernetzwerk. Die Faser in b wurde mittels EDX auf ihre Elementbestandteile untersucht (c, d). Die Herstellung des Copolymers erfolgte durch M.Sc. Nina Million⁵¹, die FESEM, REM und EDX-Messung, sowie deren Auswertung wurden von M.Sc. Catalina Molano⁵² durchgeführt.

Die Aufnahmen bestätigen erneut die erfolgreiche Herstellung eines Fasernetzwerks, das mit dem Nanopartikel-beladenen Copolymer bedeckt ist. Die EDX-Messungen zeigen zudem eine homogene Verteilung beider Nanopartikelelemente auf der Faseroberfläche (vgl. Abb. 66 c und d). Die so hergestellten Fasern, beladen mit verschiedenen Nanopartikel-Kombinationen, wurden auf ihr Freisetzungsverhalten untersucht. Die Ergebnisse sind in Abbildung 67 und 68 zusammengefasst. Dabei sind die Elemente aus einer Probe mit gleicher Linienform (durchgezogen, gestrichelt oder gepunktet) eingezeichnet. Zum Beispiel enthält die erste Probe in Abbildung 67 a 0,14 wt% Kupfer- und 0,14 wt% Eisen-Nanopartikel, deren Verläufe mit durchgezogener Linie dargestellt sind.

⁵¹ Technische Chemie I, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Stephan Barcikowski

⁵² DWI - Leibniz-Institut für Interaktive Materialien und RWTH Aachen Universität, Leitung: Prof. Dr. Andriy Pich

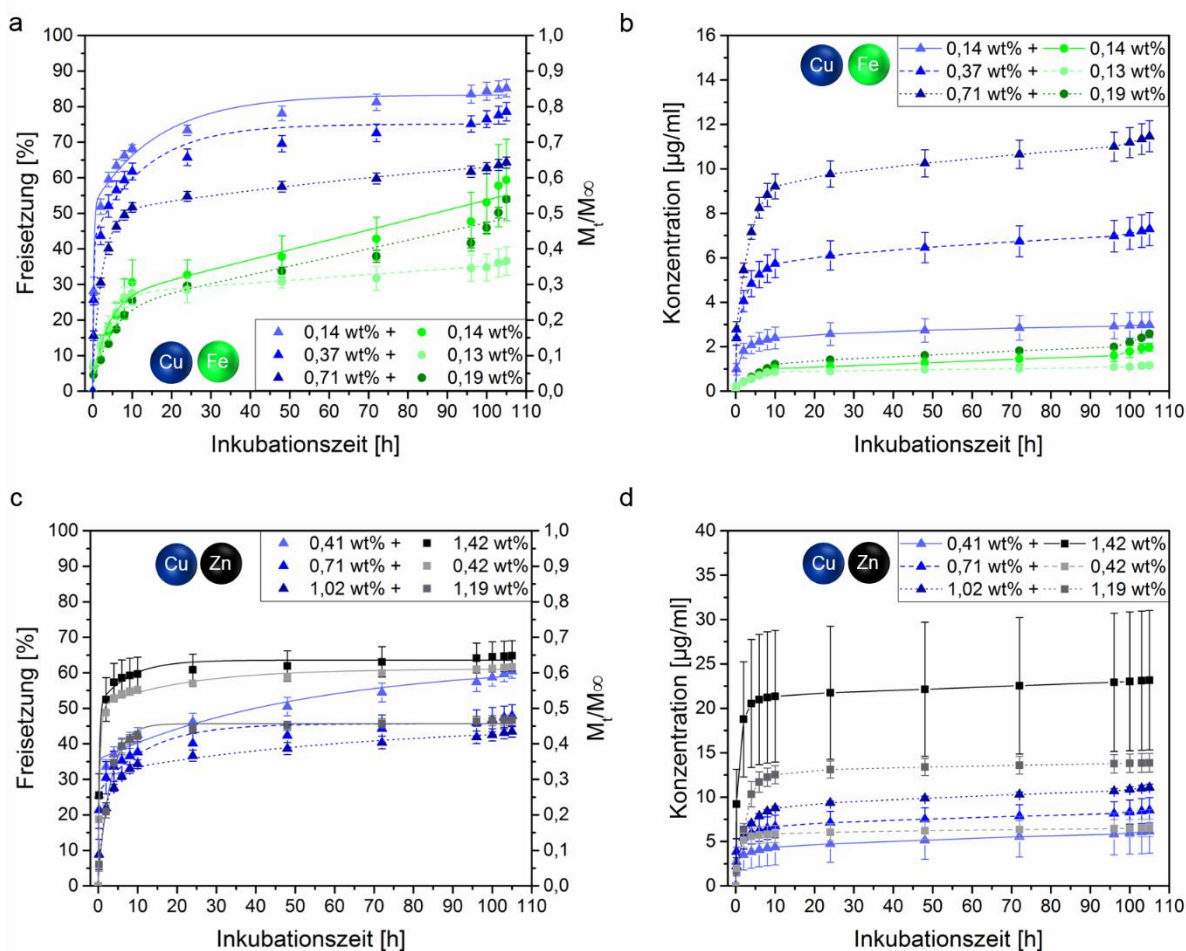


Abbildung 67: Kumulative Ionenfreisetzung aus Fasern mit PVCL/PEG-MA-Copolymer, beladen mit Kupfer- und Eisen-Nanopartikeln (a, b), bzw. Kupfer- und Zink-Nanopartikeln (c, d), in Abhängigkeit von der Beladung. Die Herstellung des Copolymers und die Durchführung der Ionenfreisetzungstests erfolgte durch M.Sc. Nina Million⁵³, das Elektrosponnen wurde von M.Sc. Catalina Molano⁵⁴ durchgeführt. Die ICP-MS-Analyse wurde in Zusammenarbeit mit Dr. Milen Nachev⁵⁵ durchgeführt.

⁵³ Technische Chemie I, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Stephan Barcikowski

⁵⁴ DWI - Leibniz-Institut für Interaktive Materialien und RWTH Aachen Universität, Leitung: Prof. Dr. Andrij Pich

⁵⁵ Aquatische Ökologie, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Bernd Sures

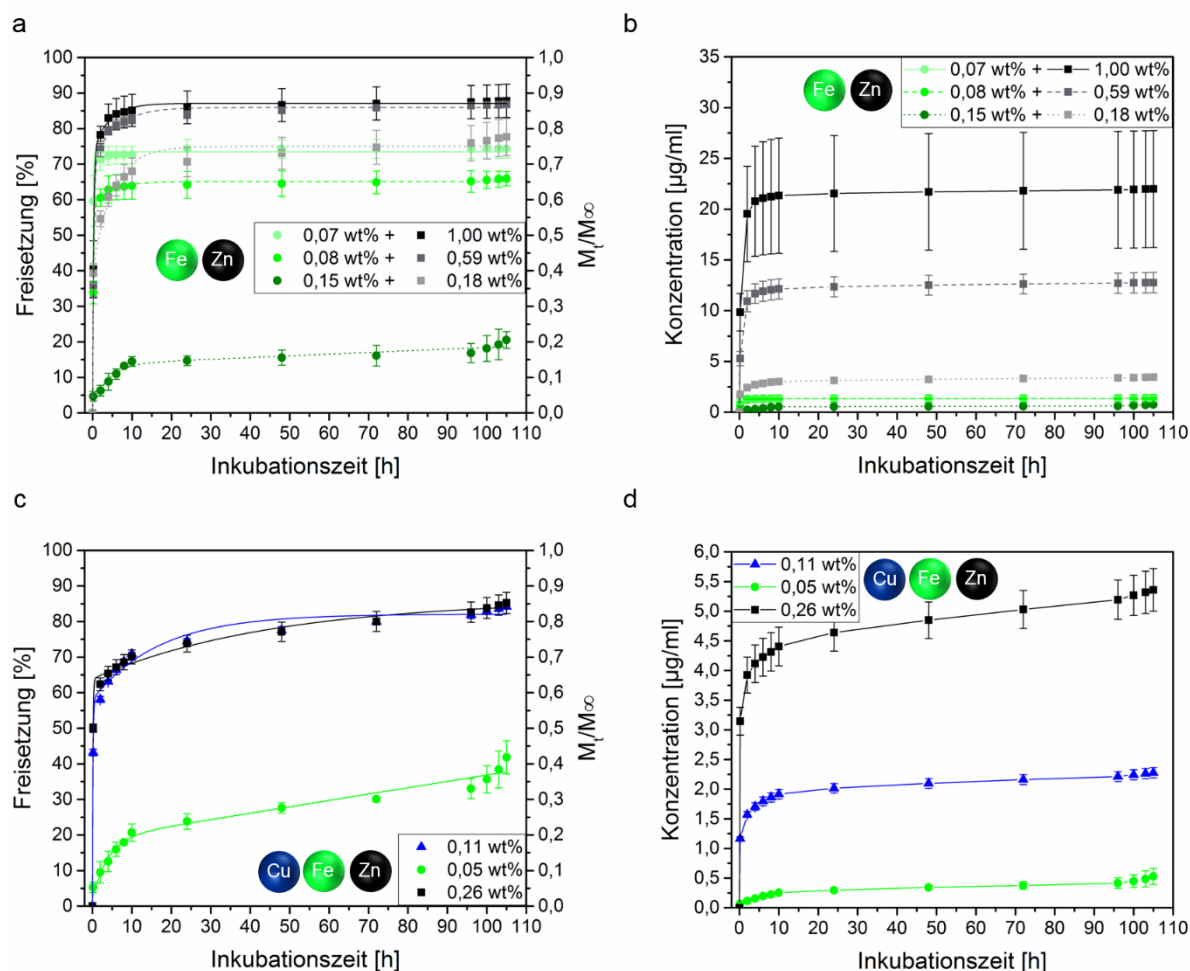


Abbildung 68: Kumulative Ionenfreisetzung aus Fasern mit PVCL/PEG-MA-Copolymer, beladen mit Eisen- und Zink-Nanopartikeln (a, b), bzw. Kupfer- und Eisen- und Zink-Nanopartikeln (c, d) in Abhängigkeit von der Beladung. Die Herstellung des Copolymers und die Durchführung der Ionenfreisetzungstests erfolgte durch M.Sc. Nina Million⁵⁶, das Elektrosplennen wurde von M.Sc. Catalina Molano⁵⁷ durchgeführt. Die ICP-MS-Analyse wurde in Zusammenarbeit mit Dr. Milen Nachev⁵⁸ durchgeführt.

Betrachtet man zunächst die Freisetzungsläufe der einzelnen Elemente, so ist der in Kapitel 6.5.2 bereits beschriebene Verlauf zu erkennen. Er wird auch hier durch die Kinetik zweiter Ordnung beschrieben (weitere Kinetikmodelle nach Higuchi und Korsmeyer-Peppas siehe Anhang, Abb. 44-47). Da die bei der Freisetzung von Ionen aus Nanopartikeln auftretenden Effekte in Kapitel 6.5.2 bereits ausführlich diskutiert wurden und hier ebenso gelten, soll im Weiteren nur auf die zusätzlichen Besonderheiten der Multielemente eingegangen werden.

⁵⁶ Technische Chemie I, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Stephan Barcikowski

⁵⁷ DWI - Leibniz-Institut für Interaktive Materialien und RWTH Aachen Universität, Leitung: Prof. Dr. Andrij Pich

⁵⁸ Aquatische Ökologie, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Bernd Sures

Zunächst soll festgehalten werden, dass der Diffusionskoeffizient der jeweiligen Ionen keinen ausschlaggebenden Effekt auf das Freisetzungsverhalten zu haben scheint (vgl. Tabelle 13). Vermutlich ist der Unterschied der Koeffizienten der verschiedenen Ionen zueinander nicht groß genug, um einen sichtbaren Einfluss zu zeigen.

Tabelle 13: Diffusionskoeffizienten verschiedener Metallionen in Wasser bei 25 °C. [223]

Metallion	Diffusionskoeffizient [*10⁻⁵ cm² s⁻¹]
Cu ²⁺	0,714
Zn ²⁺	0,703
Fe ²⁺	0,719
Fe ³⁺	0,604

Nach den in Kapitel 6.5.2 aufgeführten Standardpotentialen können die verwendeten Elemente nach ihrem edlen Charakter in der Reihenfolge Cu > Fe > Zn eingeteilt werden. Wie anhand von unterschiedlichen Metallkombinationen in Polymeren gezeigt werden konnte, wird das unedlere Metall stärker freigesetzt als das edlere Element, während die Freisetzung des edleren Elements gehemmt wird. [15] [16] Die Ionen des edleren Elements diffundieren durch das Polymernetzwerk und gehen mit dem unedleren Element eine Redox-Reaktion ein. Dabei wird das edlere Element reduziert, was seine Freisetzung hemmt und gleichzeitig die des unedleren Elements beschleunigt. [16] Dieser Effekt ist auch hier bei der Kombination von Kupfer mit Zink (vgl. Abb. 67 c und d) und Eisen mit Zink (vgl. Abb. 68 a und b) zu beobachten. Die Zinkionen wurden in beiden Fällen stärker freigesetzt als die Eisen- bzw. Kupferionen. Bei der Kombination aller drei Elemente (vgl. Abb. 68 c und d) und von Kupfer mit Eisen (vgl. Abb. 67 a und b) wurde jedoch die Freisetzung von Kupfer nicht durch das unedlere Element gehemmt. Neben dem edlen Charakter muss bei Materialkombinationen auch die Dichte der Elemente beachtet werden. [15] Die Dichten der im Copolymer möglichen Metalle und Metalloxide sind in Tabelle 14 aufgelistet.

Tabelle 14: Dichte von Metallen bzw. Metalloxiden. [223]

Metall/Metalloxid	Dichte [g/cm ³]
Zn	7,14
ZnO	5,61
Cu	8,94
CuO	6,48
Cu ₂ O	6,0
Fe	7,86
FeO	5,7
Fe ₂ O ₃	5,25
Fe ₃ O ₄	5,2

Bei gleicher Massenbeladung der Elemente im Polymer hat das Element mit der geringeren Dichte eine höhere Volumenkonzentration, wodurch der Freisetzungseffekt dieses Elements verstärkt auftreten kann. [15] Dadurch könnte auch eine Freisetzung des edleren Elements höher sein als das des unedlen Elements. Da es hier nur bei der Kombination von Kupfer mit Eisen auftritt, kann dieser Effekt nur auftreten, wenn die Eisen-Nanopartikel als elementares Eisen und die Kupfer-Nanopartikel als CuO oder Cu₂O vorlägen. Diese Annahme wäre nach den Ergebnissen in Kapitel 6.4 nachvollziehbar, da dort mittels XRD diese Elementverbindungen nachgewiesen wurden. Ebenfalls mittels XRD nachgewiesen wurde im Falle der Zink-Nanopartikel als einzige Verbindung ZnO. Diese Verbindung wurde auch mittels EDX-Messung nachgewiesen (vgl. Abb. 69).

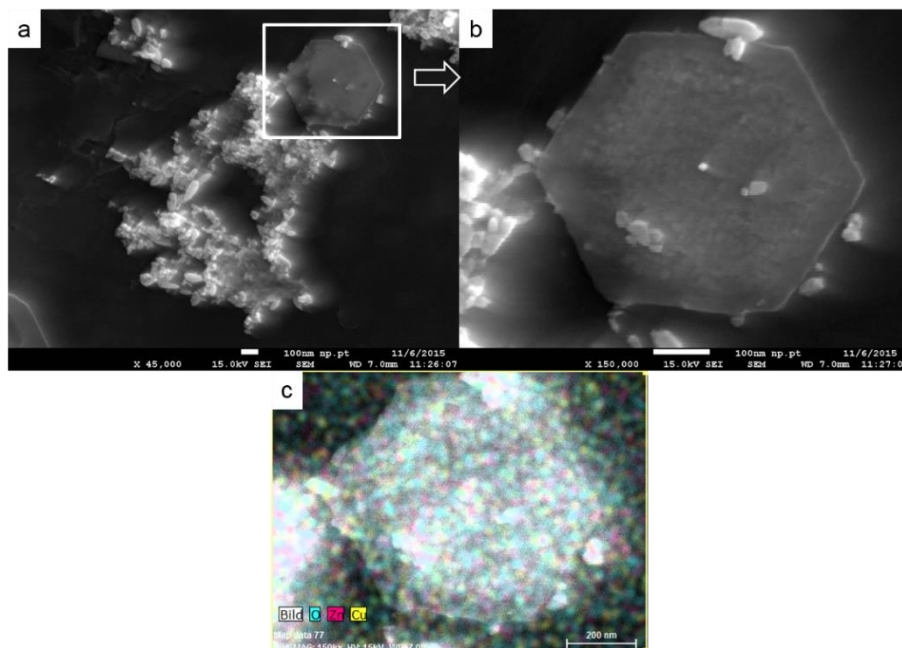


Abbildung 69: REM-Aufnahmen und zugehörige EDX-Messung eines PVCL/PEG-MA-Copolymers, beladen mit Kupfer- und Zink-Nanopartikeln.

Die hier deutlich zu erkennende Sechseck-Struktur ist repräsentativ für die Wurtzit-Struktur von ZnO. Da diese Verbindung nur durch die Ionenfreisetzung entstehen konnte, ist dies ein bildlicher Nachweis für die erfolgreiche Ionenfreisetzung aus Nanopartikeln. Zinkoxid ist das Hauptprodukt der Korrosion von Zink-Nanopartikeln, wobei die Oxidschicht auf der Oberfläche der Partikel einen passivierenden Effekt hat und die weitere Freisetzung aus diesen Partikeln verhindert. [116]

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass auch bei der Kombination von Elementen in einem Copolymer erfolgreiche Ionenfreisetzungssysteme in Form von Fasern hergestellt werden können, die über einen Zeitraum von bis zu 109 h kontinuierlich Ionen aller enthaltenen Metalle freisetzen. Die Freisetzungskonzentration kann hierbei über die Beladung der Copolymere eingestellt werden.

Nach der erfolgreichen Herstellung von Nanopartikel-Polymer-Kompositen als Ionenfreisetzungssystem, wurden diese nun auf ihre biologischen Eigenschaften analysiert.

6.6 Biologische Validierung und Anwendungen der erstellten Ionenfreisetzungssysteme

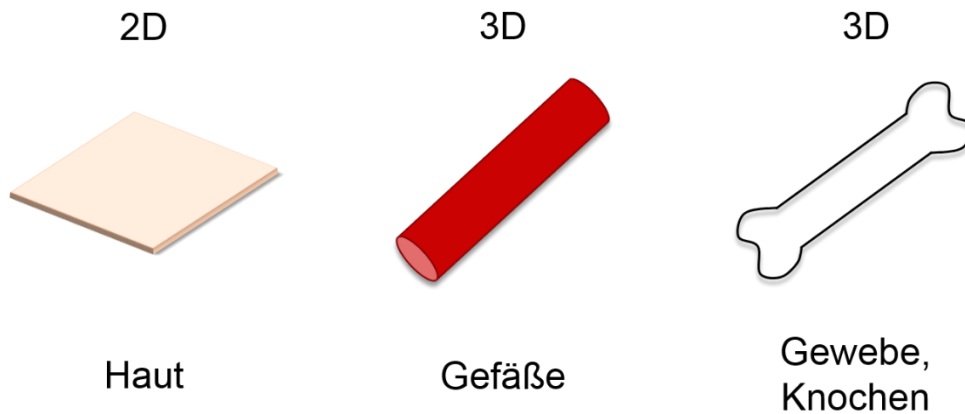


Abbildung 70: Anwendungsbereiche der hergestellten Ionenfreisetzungssysteme.

Die in dieser Arbeit gezeigten Ionenfreisetzungssysteme können in verschiedensten medizinischen Bereichen Anwendung finden. Drei von diesen möglichen Anwendungen wurden im Folgenden auf ihre Umsetzbarkeit getestet. Das Hauptaugenmerk dieser Arbeit lag in der Herstellung von Fasern, die über die kontinuierliche Ionenabgabe die Wundheilung von Brandwunden fördern soll. Als zweiter Ansatz wurden Nanopartikel-beladene Polymere hergestellt, die zur Herstellung von Gewebeersatzmaterialien, wie z.B. Gefäße, dienen sollten. Die letzte hier gezeigte Anwendung ist die Beeinflussung der Stammzelldifferenzierung zur kontrollierten Zellentwicklung, um eine Vielzahl verschiedener Gewebe züchten zu können (vgl. Abb. 70).

6.6.1 Brandwunden

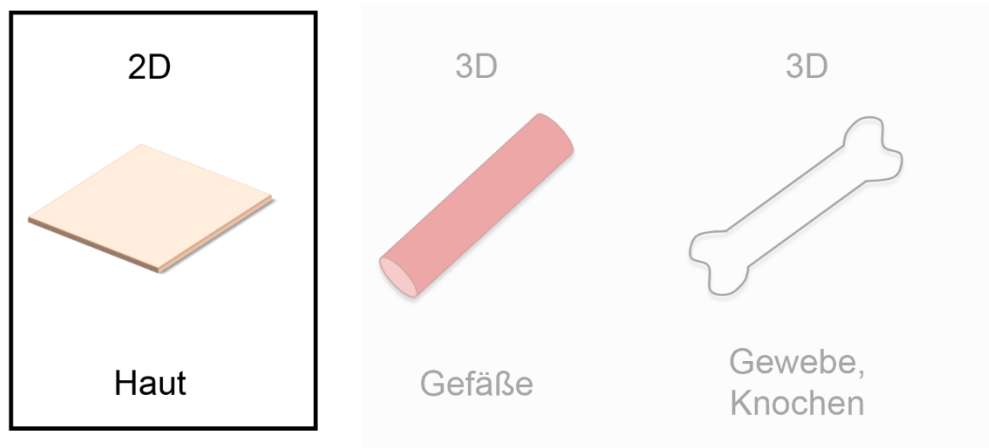


Abbildung 71: Skizze des höheren Studienziels. Durch die Herstellung von Nanopartikel-beladenen Mikrogelen auf der Faseroberfläche soll eine verbesserte Wundheilung von Brandwunden erhalten werden.

Zunächst soll die Anwendung im Bereich der Brandwundenversorgung behandelt werden. Die dargestellten Experimente wurden in Kooperation mit dem DWI – Leibniz-Institut für Interaktive Materialien an der RWTH Aachen Universität unter der Leitung von Prof. Dr. Andrij Pich, der Medizinischen Hochschule Hannover unter der Leitung von Prof. Dr. Kerstin Reimers und Prof. Dr. Peter M. Vogt sowie der Aquatischen Ökologie der Universität Duisburg-Essen unter der Leitung von Prof. Dr. Bernd Sures durchgeführt. Die Herstellung der unbeladenen und Nanopartikel-beladenen Mikrogele und die Analyse des Ionengehalts der Ratten- und Menschenhaut wurden von M.Sc. Nina Million⁵⁹ durchgeführt. Die Herstellung der Fasermaterialien wurde von Dr. Philipp Wilke⁶⁰ übernommen, die biologischen Testungen sowie die Aquis und erste Präparation der Ratten- und Menschenhaut erfolgten durch M.Sc. Vincent Coger⁶¹. Die Durchführung der ICP-MS-Messungen wurde von Dr. Milen Nachev⁶² übernommen.

Ein Teil der nachfolgenden Ergebnisse ist im De Gruyter-Verlag publiziert [269], was an entsprechender Stelle deklariert ist.

Für die medizinische Anwendung von neu entwickelten Materialien sind *In-vitro*-Testungen notwendig. Insbesondere die Einstufung der Toxizität und der Wirkung auf die Proliferation von Zellen ist von besonderer Bedeutung. Die in diesem Kapitel

⁵⁹ Technische Chemie I, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Stephan Barcikowski

⁶⁰ DWI - Leibniz-Institut für Interaktive Materialien und RWTH Aachen Universität, Leitung: Prof. Dr. Andrij Pich

⁶¹ Medizinische Hochschule Hannover, Leitung: Prof. Dr. Kerstin Reimers und Prof. Dr. Peter M. Vogt

⁶² Aquatische Ökologie, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Bernd Sures

verwendeten Copolymere bestanden aus PVCL/AAEM und wurden zunächst auf die beiden genannten Eigenschaften mit der Fibroblasten-Zelllinie L929 getestet.

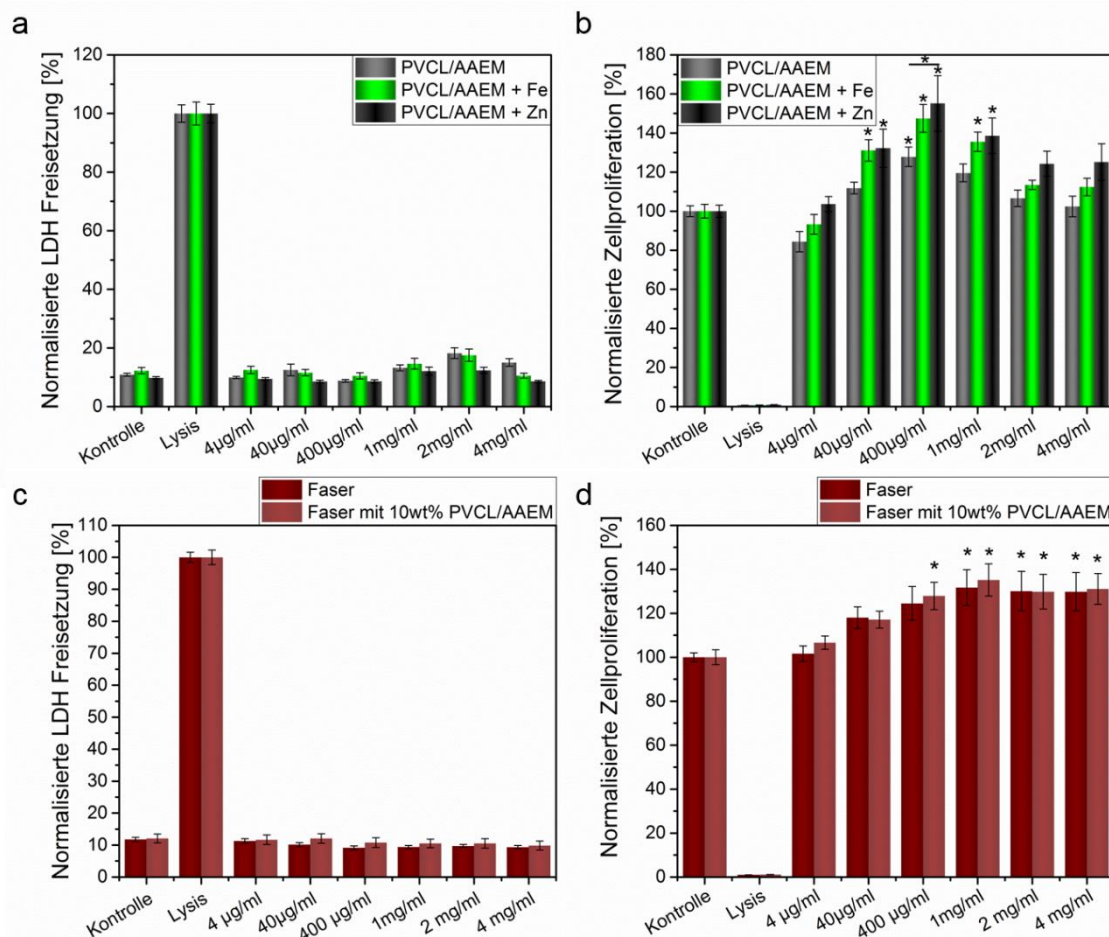


Abbildung 72: Einfluss von Eluaten aus PVCL/AAEM-Mikrogelen (a, b) bzw. Fasern beladen mit PVCL/AAEM-Mikrogelen (c, d) unterschiedlicher Konzentration auf die L929 Zelllinie. Die Daten der Zytotoxizitätsmessungen (a, c) wurden normiert auf den Lysis-Wert, die Proliferationsmessungen (b, d) wurden normiert auf die Kontrollkultur. Jeder Messwert ist der Mittelwert inklusive Standardabweichung von drei voneinander unabhängigen Experimenten. Angegeben ist die Bonferroni Varianzanalyse mit * $p < 0,05$. Die Herstellung der Mikrogele erfolgte durch M.Sc. Nina Million⁶³, die Herstellung der Fasern durch Dr. Philipp Wilke⁶⁴ und die biologischen Testungen durch M.Sc. Vincent Coger⁶⁵. [269]

Die toxische Wirkung eines Stoffes wird hier durch die Messung von L-Lactatdehydrogenase (LDH), welches ausschließlich von geschädigten Zellen freigesetzt wird, angegeben. 100 % LDH-Freisetzung bedeutet demnach eine hoch toxische Wirkung des Materials auf die Zellen. Sowohl bei den Mikrogelestungen als auch bei den Testungen der Fasern (mit und ohne Mikrogele) ist kein Unterschied zur Kontrollkultur zu erkennen (vgl. Abb. 72 a und c). Das heißt, dass das verwendete

⁶³ Technische Chemie I, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Stephan Barcikowski

⁶⁴ DWI - Leibniz-Institut für Interaktive Materialien und RWTH Aachen Universität, Leitung: Prof. Dr. Andrij Pich

⁶⁵ Medizinische Hochschule Hannover, Leitung: Prof. Dr. Kerstin Reimers und Prof. Dr. Peter M. Vogt

System keinen zytotoxischen Effekt zeigt. Durch die Anwendung von 400 µg/ml unbeladenem Mikrogel oder Eisen-beladenem Mikrogel wird eine Verbesserung der Zellproliferation, im Falle von Zink-beladenem Mikrogel sogar eine statistisch signifikante Verbesserung, erhalten (vgl. Abb. 72 b und d). Unter der Verwendung des Fasermaterials findet eine signifikante Verbesserung der Proliferation zur Kontrollkultur bei einer Konzentration über 1 mg/ml statt. Im Vergleich zum reinen Mikrogel verringert das Elektrosplennen somit die Wirkung des Gels auf die Proliferation der Fibroblasten-Zelllinie. Bei einer verwendeten Beladung von 1 wt% der Nanopartikel im Mikrogel und unter der Annahme, dass innerhalb von 24h etwa 50 % als Ionen freigesetzt werden, ist eine Konzentration im Eluat von 450 µM Eisen bzw. 300 µM Zink anzunehmen. Die toxische Konzentration von Fe^{2+} liegt bei 6.950 µM, Fe^{3+} bei 5.420 µM und Zn^{2+} bei 92,8 µM [270] bzw. 33,5 µM [271], bezogen auf die Wirkung auf L929. Im Falle von Eisen liegt die angewendete Konzentration deutlich unter der Toxizitätsgrenze, was die erhaltenen Ergebnisse bestätigt. Die Zinkkonzentration ist jedoch wesentlich höher als die Toxizitätsgrenze aus der Literatur, weshalb der nicht-toxische Effekt überraschend ist. [269]

Die Testung der Toxizität und Proliferation von Zellen unter der Verwendung einer Zelllinie ist jedoch nur der erste Schritt zur Anwendung. Um die bisher erhaltenen Biokompatibilitätsanalysen zu bestätigen, wurden dieselben Experimente mit humanen dermalen Fibroblasten und humanen Keratinozyten durchgeführt.

Die nachfolgenden Ergebnisse sind bei BioNanoMaterials publiziert. [199]⁶⁶

⁶⁶ Water-based, surfactant-free cytocompatible nanoparticle-microgel-composite biomaterials – rational design by laser synthesis, processing into fiber pads and impact on cell proliferation, BioNanoMaterials, 18(3-4), 2017. <http://dx.doi.org/10.1515/bnm-2017-0004>.

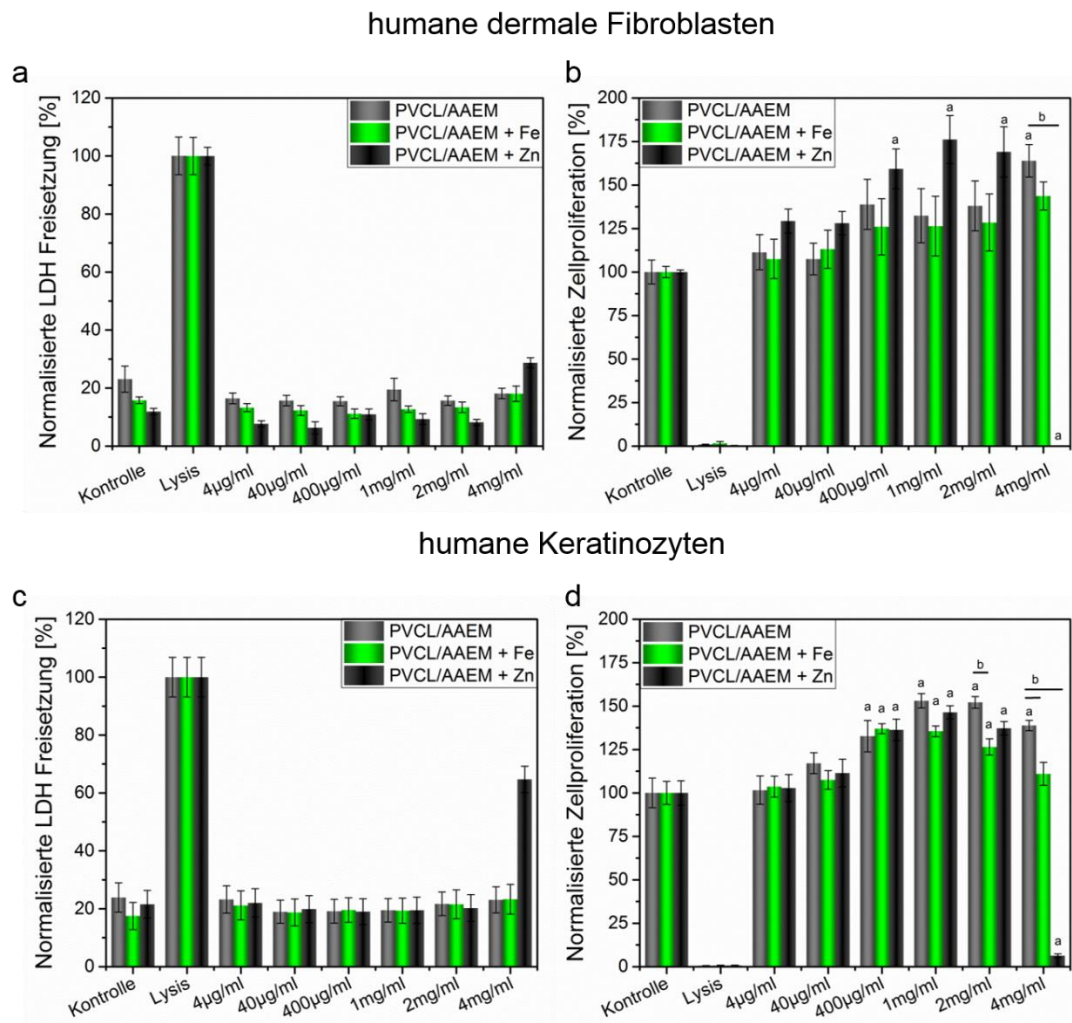


Abbildung 73: Einfluss verschiedener Mikrogel-Eluatkonzentrationen auf hd-FB (a, b) und h-KC (c, d).

Proliferationstests (a, c) wurden normalisiert auf die Kontrollkultur, die Zytotoxizitätstests (b, d) auf den Lysis-Wert. Die Ergebnisse zeigen die Mittelwerte aus drei voneinander unabhängigen Experimenten und deren Standardabweichung vom Mittelwert. Die Bonferroni Varianzanalyse sind mit $p < 0,05$ gegen die Kontrollkultur (a) und gegen das unbeladene Mikrogel (b) gezeigt. Die Herstellung der Mikrogel erfolgte durch M.Sc. Nina Million⁶⁷ und die biologischen Testungen durch M.Sc. Vincent Coger⁶⁸. [199]⁶⁹

„Die Ergebnisse der Zytotoxizitätsmessungen zeigen für kein Materialsystem und bei keiner Konzentration eine Abweichung vom Kontrollsystem (vgl. Abb. 73 a und c). Lediglich beim Einsatz von 4 mg/ml eines Mikrogels beladen mit Zink-Nanopartikeln war ein erhöhter LDH-Wert zu messen, wobei die Wirkung auf Keratinozyten stärker ist (65 % LDH-Release) als auf die Fibroblasten (29 % LDH-Release). Diese toxische Wirkung wird auch durch die Proliferationsergebnisse bestätigt, die einen kompletten Verlust der Proliferationstätigkeit zeigen (vgl. Abb. 73 b und d). Durch Anwendung

⁶⁷ Technische Chemie I, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Stephan Barcikowski

⁶⁸ Medizinische Hochschule Hannover, Leitung: Prof. Dr. Kerstin Reimers und Prof. Dr. Peter M. Vogt

⁶⁹ Water-based, surfactant-free cytocompatible nanoparticle-microgel-composite biomaterials – rational design by laser synthesis, processing into fiber pads and impact on cell proliferation, *BioNanoMaterials*, 18(3-4), 2017. <http://dx.doi.org/10.1515/bnm-2017-0004>.

eines unbeladenen Mikrogels wird die Keratinozyten-Zellproliferation ab einer Konzentration von 400 µg/ml signifikant erhöht, wobei die beste Proliferation bei Konzentrationen von 1 mg/ml und 2 mg/ml gefunden wird. Für Fibroblasten ist eine konstante Erhöhung der Proliferation mit steigender Konzentration zu beobachten, wobei bei einer Konzentration von 4 mg/ml der Wert 1,6 mal höher ist als für die Kontrollkultur. Unter Einbringung von Eisen-Nanopartikeln in das Mikrogel wird der positive Effekt des unbeladenen Mikrogels leicht reduziert. Die beste Proliferation wird hier für Konzentrationen von 0,4 mg/ml und 1 mg/ml (h-KC) und 4 mg/ml (hd-FB) gefunden.“ [199]⁷⁰

Die Wirksamkeit der verschiedenen Mikrogelsysteme wurde über die Messung der Zellmigration, ebenfalls mit beiden Zelltypen (hd-FB und h-KC), bestimmt. Die eingesetzte Eluatkonzentration betrug dabei 1 mg/ml.

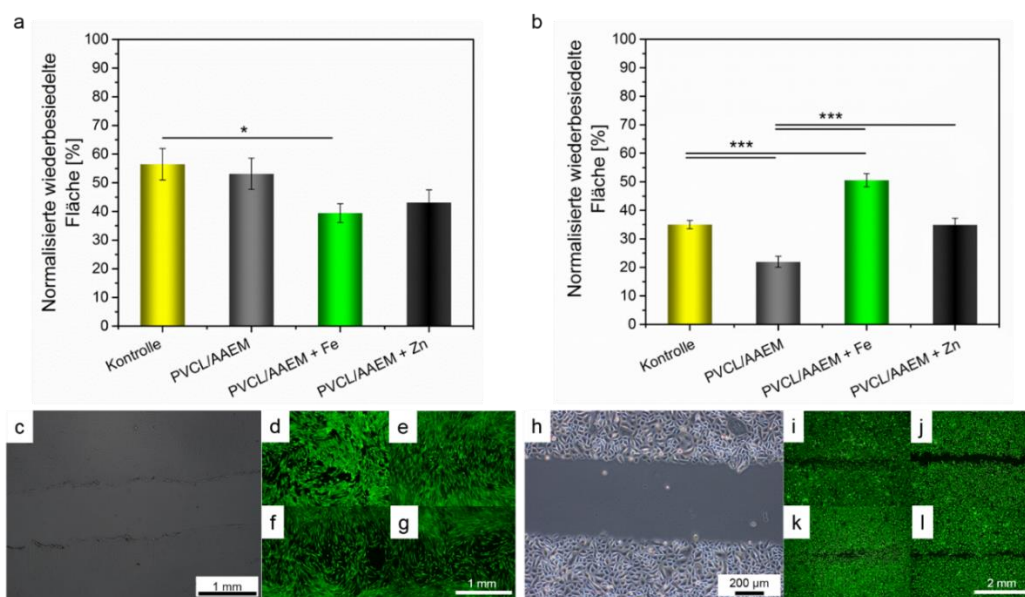


Abbildung 74: Einfluss von Eluaten aus Mikrogelen auf die Zellmigration (Scratchtests) von hd-FB (a, c-g) und h-KC (b, h-l). Abbildungen a und b zeigen die wiederbesiedelte Fläche mit Zellen nach 48 h im Vergleich zum

Initialspalt ($t = 0$), normalisiert auf initiale freie Fläche als maximal erreichbare Migration. Die zugehörigen Kontrastbilder bei $t = 0$ (c und h) sowie die Fluoreszenzbilder nach 48 h für die Kontrollkultur (d, i), unbeladene PVCL/AAEM-Mikrogele (e, j), Eisen-Nanopartikel-beladene PVCL/AAEM-Mikrogele (f, k) und Zink-Nanopartikel-beladene PVCL/AAEM-Mikrogele (g, l) zeigen den Ursprung der in a und b gezeigten Werte. Die Bilder sind repräsentativ für jeweils drei voneinander unabhängige Experimente. Bonferroni-Analyse ist angegeben mit

* $p < 0,05$ und *** $p < 0,001$. Die Herstellung der Mikrogele erfolgte durch M.Sc. Nina Million⁷¹ und die biologischen Testungen durch M.Sc. Vincent Coger⁷². [199]⁷⁰

⁷⁰ Water-based, surfactant-free cytocompatible nanoparticle-microgel-composite biomaterials – rational design by laser synthesis, processing into fiber pads and impact on cell proliferation, *BioNanoMaterials*, 18(3-4), 2017. <http://dx.doi.org/10.1515/bnm-2017-0004>.

⁷¹ Technische Chemie I, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Stephan Barcikowski

⁷² Medizinische Hochschule Hannover, Leitung: Prof. Dr. Kerstin Reimers und Prof. Dr. Peter M. Vogt

„Im Fall der Fibroblasten hat ein unbeladenes Mikrogel keinen Einfluss auf die Migration im Vergleich zur Kontrolle. Die Einbringung von metallischen Nanopartikeln zeigt jedoch eine signifikante Erniedrigung der Zellmigration (vgl. Abb. 74 a). Auf Keratinozyten ist eine andere Reaktion zu erkennen. Das unbeladene Mikrogel zeigt eine signifikante Reduzierung der Zellmigration, während die Einbringung von Eisen- oder Zink-Nanopartikeln eine signifikant effektivere Schließung des Spalts zeigt. Diese Ergebnisse weisen auf einen Einfluss der Testsysteme auf die Zellmigration in Abhängigkeit vom Zelltyp hin.

Anhand der Beladung der Mikrogele und unter der Annahme, dass 25-50 % der Partikel innerhalb von 24 h als Ionen freigesetzt werden, können Konzentrationen von 20 ng/ml-20 µg/ml bei den Zytotoxizitätstests und Proliferationstests, sowie 5 µg/ml bei den Migrationstests angenommen werden. Die gezeigte Zytotoxizität von Zinkionen auf Keratinozyten bei Konzentrationen von 300 µM kann auf den Toxizitätsgrenzwert (LD50) von 230 µM zurückgeführt werden. [272] Auch die Fibroblasten zeigen durch die höchste getestete Konzentration einen erhöhten LDH-Wert, was in guter Übereinstimmung mit der geringen Zellproliferation und der Toxizitätsschwelle von 200-500 µM [105] steht. Dies zeigt, dass Zink oberhalb einer definierten Konzentration sowohl auf Fibroblasten als auch auf Keratinozyten eine schädliche Wirkung hat. Eisen-beladene Mikrogele verursachten die Verringerung der KC- und FB-Proliferation sowie eine reduzierte FB-Migration und erhöhte KC-Migration. Doch auch unbeladene Mikrogele haben einen positiven Effekt auf die KC- und FB-Proliferation. Woher dieser Effekt stammt ist jedoch unklar, da sichergestellt wurde, dass in den Eluaten keine Mikrogelrückstände enthalten waren. Neben dem toxischen Effekt von Zink-beladenen Mikrogele bei hohen Konzentrationen ist kein Effekt auf die Proliferation von Keratinozyten zu sehen. Allerdings kompensiert dieses System die Reduzierung der Migration, die bei unbeladenen Mikrogele beobachtet wurde. Die Erhöhung der Fibroblastenproliferation ist jedoch nicht während der Migrationstests wiederzufinden.

Die Proliferation und Migration von Zellen sind zwei der wichtigsten Aspekte der Wundheilung. Durch die hier erhaltenen Ergebnisse kann man schlussfolgern, dass unsere Systeme Potential zur Verbesserung der Wundheilung besitzen.“ [199]⁷³ Die additive Ionenzugabe innerhalb des jeweiligen therapeutischen Fensters könnte

⁷³ Water-based, surfactant-free cytocompatible nanoparticle-microgel-composite biomaterials – rational design by laser synthesis, processing into fiber pads and impact on cell proliferation, *BioNanoMaterials*, 18(3-4), 2017. <http://dx.doi.org/10.1515/bnm-2017-0004>.

neben einem verbesserten Zellwachstum auch eine antimikrobielle Wirkung zeigen und durch die Abtötung von Bakterien und Erregern zusätzlich zur Wundheilung beitragen. [273] [274]

Um einen Einblick darin zu bekommen, welche Elemente in welchem Umfang während der Wundheilung benötigt werden, wurden Ionenbestimmungen von Rattenhaut bei verschiedenen Zeitpunkten der Wundheilung von Vollhautwunden durchgeführt.

Zur Bestimmung der Ionenkonzentration in den Vollhautwunden wurde ein Mikrowellen-Aufschluss durchgeführt und die ICP-MS verwendet. Um die Verlässlichkeit der so erhaltenen Messwerte beurteilen zu können, wurde zunächst eine Validierung der Messmethode durchgeführt. Dazu wurden zwei Standard-Referenzmaterialien (Dorm3 und Muschelgewebe) nach der gleichen Methode aufgeschlossen und mittels ICP-MS analysiert. Die Konzentration der gemessenen Elemente wurde mit dem Literatur-Sollwert auf ihre Übereinstimmung überprüft.

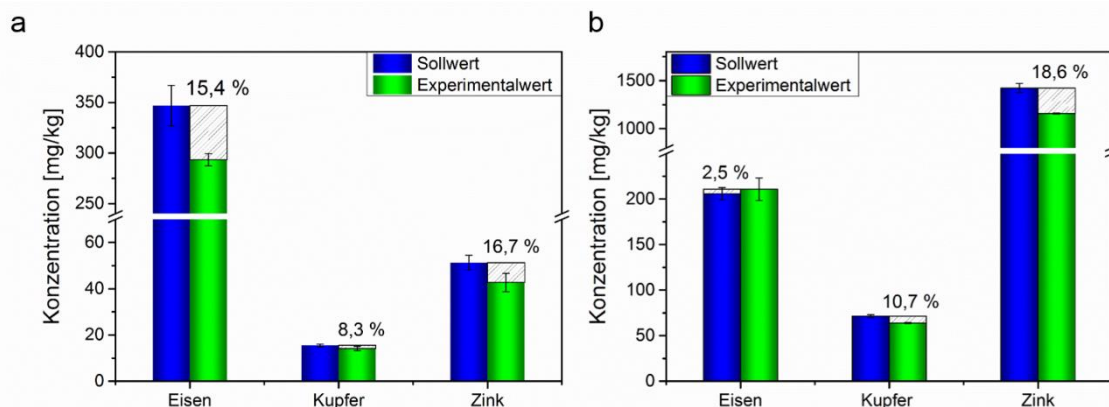


Abbildung 75: Validierung der Messmethode ICP-MS anhand der Referenzmaterialien Dorm3 (a) und Muschelgewebe (b). Die Probenverarbeitung für die Analyse wurde von Marcus Hildebrandt⁷⁴ und Dr. Milen Nachev⁷⁵ vorgenommen und die Analyse mittels ICP-MS durch letzteren durchgeführt.

Abbildung 75 zeigt die prozentuale Abweichung der Messwerte von den Sollwerten [275] [276] der einzelnen Elemente im Gewebe. Sowohl für Eisen als auch für Kupfer und Zink ist eine gute Wiederfindungsrate zu erkennen. Eine Abweichung von bis zu 20 % vom Sollwert gilt als akzeptabel, was bedeutet, dass die hier verwendete Messmethode für die Analyse von Gewebe geeignet ist. Daher wurde die entnommene Rattenhaut, wie im Experimentaltail beschrieben, verarbeitet und vermessen. Die erhaltenen Ionenkonzentrationen zu den jeweiligen Zeitpunkten der

⁷⁴ Technische Chemie I, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Stephan Barcikowski

⁷⁵ Aquatische Ökologie, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Bernd Sures

Wundheilung sind in Abbildung 76 zusammengestellt. Der Ionengehalt zum Zeitpunkt 0 beschreibt den Zustand einer intakten Hautschicht.

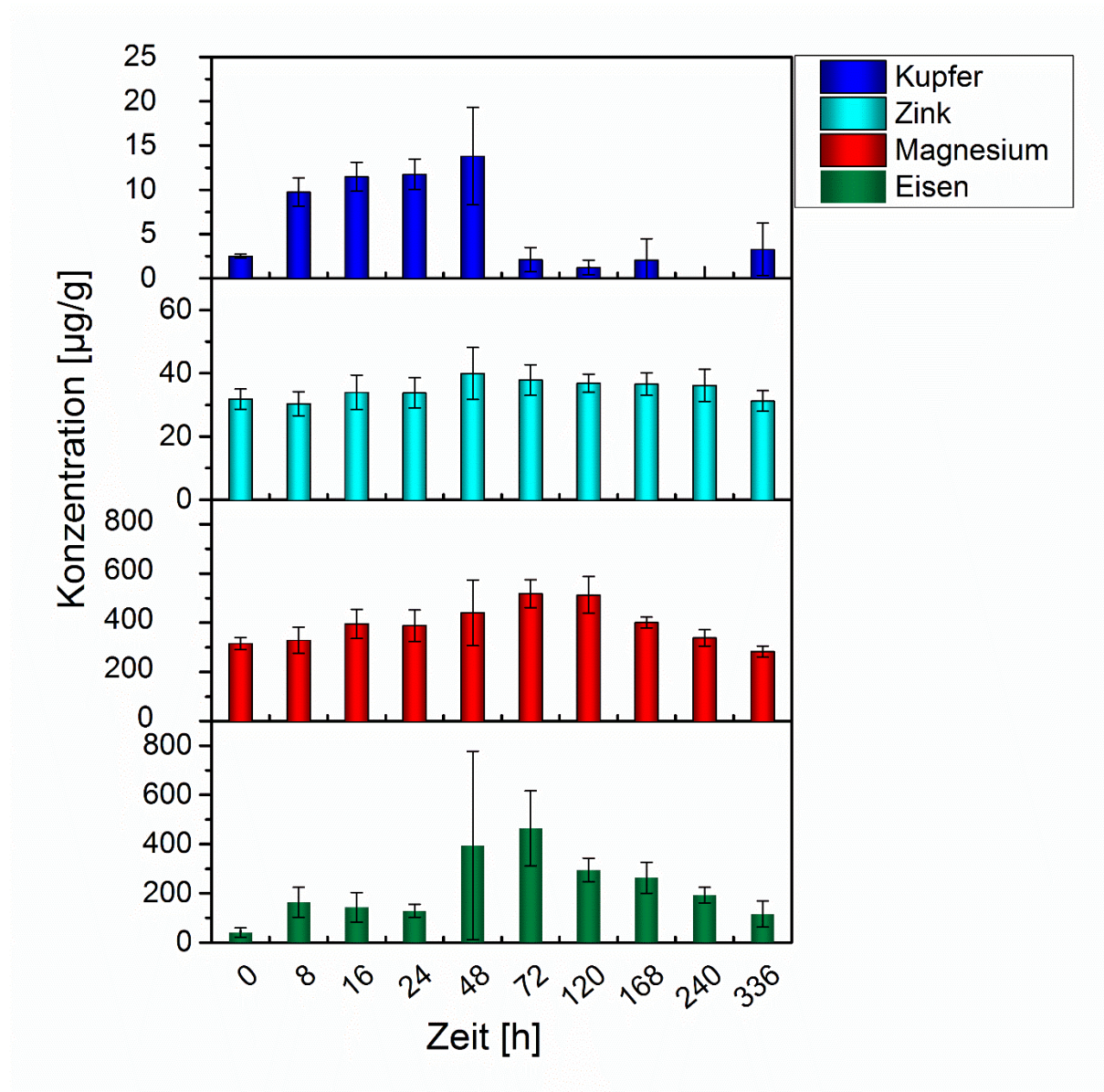


Abbildung 76: Metallionenkonzentrationen in Vollhautwunden von Ratten zu verschiedenen Heilungszeitpunkten. Der Wert zum Zeitpunkt 0 kennzeichnet den Ionengehalt einer gesunden und intakten Hautschicht (Normalhaut). Die Rattenhaut wurde von M.Sc. Vincent Coger⁷⁶ präpariert, die Probenverarbeitung für die Analyse wurde von Marcus Hildebrandt, M.Sc. Nina Million⁷⁷ und Dr. Milen Nachev⁷⁸ vorgenommen und die Analyse mittels ICP-MS durch letzteren durchgeführt.

Der hier gezeigte Ionenhaushalt beschreibt die Ionenkonzentration in einer Wunde, die unter optimalen Bedingungen verheilt. Nach Lansdown *et al.* herrscht in den ersten 186 h die Entzündungs- und Proliferationsphase vor, wonach die

⁷⁶ Medizinische Hochschule Hannover, Leitung: Prof. Dr. Kerstin Reimers und Prof. Dr. Peter M. Vogt

⁷⁷ Technische Chemie I, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Stephan Barcikowski

⁷⁸ Aquatische Ökologie, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Bernd Sures

Remodellierungsphase folgt. [49] Diese Zeitangaben variieren jedoch in der Literatur, wodurch die Entzündungs- und Proliferationsphase auch bis zu 10 Tage andauern kann. [43]

In trockener Normalhaut wurde eine Spurenelementkonzentration von $63,94 \pm 11,73 \mu\text{g/g}$ Zink, $5,13 \pm 1,06 \mu\text{g/g}$ Kupfer und $0,46 \pm 0,03 \text{ mg/g}$ Magnesium in der Literatur festgestellt. [49] Diese Werte stimmen mit den hier gezeigten Werten von $31,84 \pm 3,18 \mu\text{g/g}$ Zink, $2,50 \pm 0,23 \mu\text{g/g}$ Kupfer und $0,32 \pm 0,02 \text{ mg/g}$ Magnesium gut überein. Die leichten Abweichungen können daraus resultieren, dass in der zitierten Literatur Schnittwunden, statt wie hier Vollhautwunden, untersucht wurden. [49]

Im Verlauf der Wundheilung ist Magnesium mit dem höchsten Konzentrationsspiegel vertreten. Kupfer hingegen zeigt die geringste Konzentration im gesamten Verlauf. Die ebenfalls hohe Konzentration an Eisen könnte durch Anhaftungen von Blut an der Wundhaut beeinflusst worden sein, da Eisen ein elementarer Bestandteil des Blutes innerhalb des Hämoglobins darstellt. [36] Es wird im Weiteren angenommen, dass die in Abbildung 76 gezeigten Eisenkonzentrationen unbeeinflusst waren. Die Zunahme der Eisenkonzentration in der Wunde weist darauf hin, dass Eisen vermehrt in die Wunde transportiert wird, um zum Beispiel eine Vielzahl an enzymatischen Vorgängen zu fördern. Durch den dabei resultierenden Verbrauch an Eisen nimmt die Konzentration mit der Zeit wieder ab und wird scheinbar nicht nachgebildet. Magnesium ist ein Element, welches insbesondere an Proteine im Blut gebunden ist. [50] Durch die vermehrte Proteinsynthese während der Re-Epithelialisierung [44] ist auch hier der Anstieg der Magnesiumkonzentration zu erklären. In der Literatur nimmt die Magnesiumkonzentration bis Tag 5 um das 1,7-fache zu und fällt bis zum siebten Tag auf das Normalniveau zurück. [49] In Abbildung 76 ist eine Zunahme um das 1,6-fache der Normalhaut bis Tag 7 zu erkennen, jedoch ist der Normalwert erst nach 10 Tagen wieder erreicht. Sowohl Kupfer als auch Zink sind essentielle Elemente in Stoffwechselvorgängen im menschlichen Körper. [50] Die Zinkkonzentration erweist sich als nahezu stabil während des gesamten Wundheilungsverlaufs. Die in der Literatur berichtete Konzentrationszunahme um 71 % bis Tag 5 und der Rückgang auf Normalniveau bis Tag 7 [49] ist hier nicht zu erkennen. Auch der Verlauf der Kupferkonzentration weicht von der Literatur, in welcher eine dauerhaft konstante Konzentration berichtet wird [49], deutlich ab. Es wurde eine Konzentrationszunahme um das 5-fache innerhalb der ersten 2 Tage auf eine Maximalkonzentration von $13 \mu\text{g/g}$ beobachtet (vgl. Abb. 76).

Nach der Analyse von Rattenhaut stellte sich die Frage, ob diese Ergebnisse auch auf den Menschen angewandt werden können. Dazu wurde Normalhaut von humanen Spendern auf ihren Ionengehalt im Vergleich zur Rattenhaut untersucht. Abbildung 77 zeigt diesen Vergleich, inklusive der Veranschaulichung der auftretenden Abweichungen.

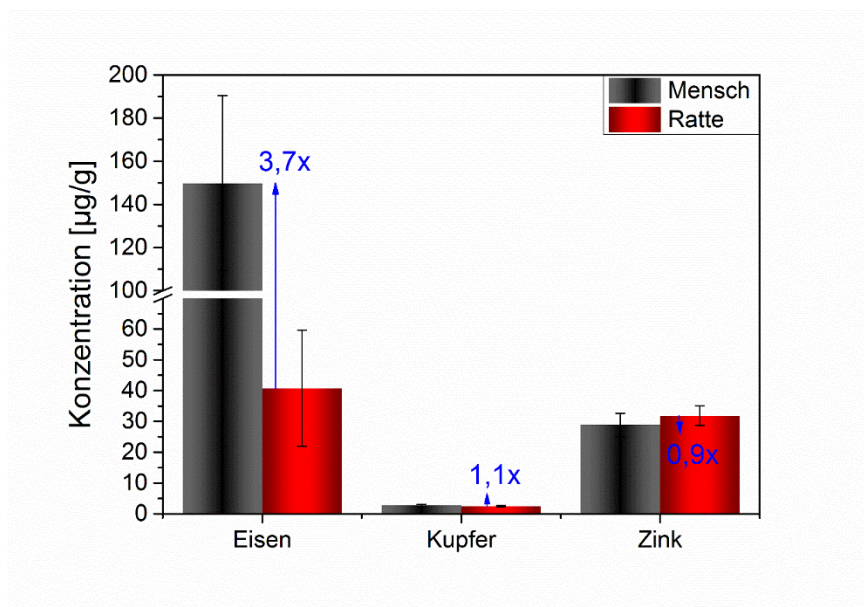


Abbildung 77: Vergleich der Metallionenkonzentrationen in Vollhautwunden von Ratten und Menschen zum Zeitpunkt 0 (Normalhaut). Die Ratten- und Menschenhaut wurde von M.Sc. Vincent Coger⁷⁹ präpariert, die Probenverarbeitung für die Analyse wurde von M.Sc. Nina Million⁸⁰ und Dr. Milen Nachev⁸¹ vorgenommen und die Analyse mittels ICP-MS durch letzteren durchgeführt.

In Abbildung 77 deutlich zu erkennen ist, dass die Ionenkonzentrationen der Menschenhaut nur marginal von denen der Rattenhaut abweichen. Die hohe Abweichung der Eisenkonzentration wird hier auf den Einfluss von Blutrückständen an den Hautproben zurückgeführt. Die Daten der Rattenhautexperimente sind somit auch für Menschen anwendbar.

In Kapitel 6.5.2 und 6.5.3 wurden Ionenfreisetzungen aus den hergestellten Kompositmaterialien dargestellt. Dabei wurde gezeigt, dass die absolute Konzentration jedes Elements über die Beladung des Copolymers eingestellt werden kann. Für alle Elemente wurde ebenfalls eine kontinuierliche Freisetzung über einen Zeitraum von 5 Tagen dokumentiert. Die Kombination von Elementen in einem Copolymer beeinflusste dieses Verhalten nicht.

⁷⁹ Medizinische Hochschule Hannover, Leitung: Prof. Dr. Kerstin Reimers und Prof. Dr. Peter M. Vogt

⁸⁰ Technische Chemie I, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Stephan Barcikowski

⁸¹ Aquatische Ökologie, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Bernd Sures

Nach der Bestimmung des Ionenhaushalts einer Vollhautwunde lässt sich schlussfolgern, dass diese über einen Zeitraum von 14 Tagen sowohl Zink als auch Eisen und Magnesium kontinuierlich benötigt. Kupfer wird jedoch nur innerhalb der ersten zwei Tage benötigt. Dementsprechend wären Wundauflagen, welche eine Kombination aller vier Elemente innerhalb der ersten zwei Tage und danach nur Eisen, Zink und Kupfer beinhalten, zur Unterstützung der Wundheilung dienlich. Dabei muss die Beeinflussung der Elemente untereinander bei der Freisetzung beachtet werden. Im Falle der Dreierkombination sollte das Mengenverhältnis $\text{Zink} > \text{Kupfer} > \text{Eisen}$ im Copolymer vorherrschen, um die benötigten Konzentrationsverhältnisse in der Wunde zu erhalten. Dabei ist jedoch nicht sicher, ob die benötigte Konzentration an Eisen erreicht würde, da die beiden alternativen Ionen immer verstärkter freigesetzt würden. Um diese im Wirkungsbereich zu halten, würde die resultierende Eisenkonzentration vermutlich zu gering ausfallen. Da die Freisetzung von Magnesium zuvor nicht bestimmt wurde, kann über dessen Freisetzungsverhalten keine verlässliche Aussage getroffen werden. Dies bedarf weiterer Untersuchungen.

Abschließend konnte gezeigt werden, dass ein Copolymersystem, bestehend aus den Monomeren VCL und PEG-MA, versponnen zu Fasern als Verbandsmaterial umgesetzt werden kann. Diese Systeme zeigen eine kontinuierliche Freisetzung, anwendbar für eine Langzeitbehandlung von Patienten. Über die Analyse von Rattenhaut, die nachweislich auch auf den Menschen angewendet werden kann, ist erkennbar, dass das Komposit zur Behandlung von Brandwunden dienen kann, indem eine Materialkombination von Zink, Kupfer und Eisen im Copolymer immobilisiert wird. Die Konzentration, die zur Wundbehandlung benötigt wird, kann von Fall zu Fall über die Beladung eingestellt werden.

6.6.2 Weitere Anwendungsmöglichkeiten von Ionenfreisetzungssystemen

Neben der zweidimensionalen Verarbeitung von Nanopartikel-Polymer-Kompositen zu Verbandsmaterialien für die unterstützte Brandwundenheilung, sind auch dreidimensionale Medizinprodukte von Interesse. Solche dreidimensionalen Konstrukte können zum Beispiel Implantate mit verbesserter antibakterieller Wirkung sein [277] oder aber auch Gerüste, die zur Zellzüchtung bzw. Gewebeneubildung verwendet werden.

6.6.2.1 Gefäßbildung

In diesem Kapitel soll auf die Herstellung eines Gerüsts zur Zellzüchtung eingegangen werden. Dabei steht als höheres, zukünftiges Ziel die Bildung von Gefäßen, wie Venen und Arterien, im Fokus.

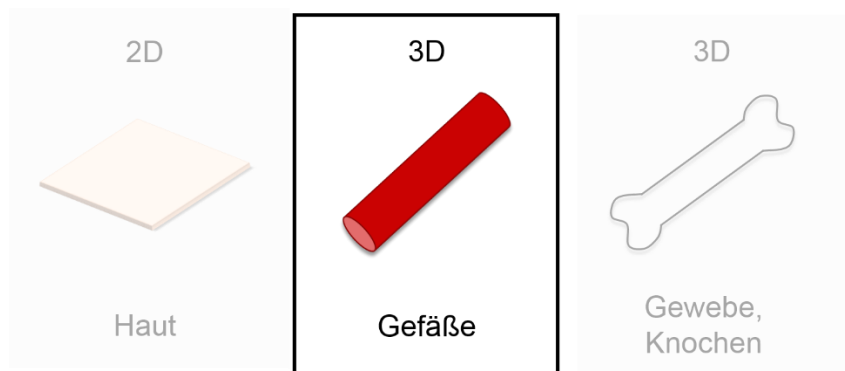


Abbildung 78: Skizze des höheren Studienziels. Durch die Herstellung eines Gerüsts soll eine verbesserte Zellzüchtung zur Bildung von dreidimensionalen Gefäßen erlangt werden.

Im Zuge dessen wurde in Kooperation mit der Arbeitsgruppe der Zahnärztlichen Werkstoffkunde und Biomaterialforschung (ZWBF) der Universitätsklinik der RWTH Aachen unter der Leitung von Univ.-Prof. Dr.-Ing. Horst Fischer ein Materialgerüst, bestehend aus Alginat, hergestellt, das durch Inkorporation von Nanopartikeln eine verbesserte Zelladhäsion bewirken sollte.

Um dieses Gerüst zu erhalten, waren zwei Arbeitsschritte nötig: zum einen die Herstellung der Nanopartikel-beladenen Alginatlösung und zum anderen die Bioextrusion zu einem dreidimensionalen Gerüst, in unserem Fall einer Röhre. Anschließend wurden die so hergestellten Gerüste charakterisiert. Die finale Aufgabe bestand dann in der biologischen Testung des Produkts hinsichtlich seiner Zellreaktions-Eigenschaften.

Die nachfolgenden Ergebnisse wurden bei Nano Research publiziert. [197]⁸²

Die Herstellung der Nanopartikel-beladenen Alginate, deren Analyse sowie die Charakterisierung der Alginatröhrchen und die dazugehörige Auswertung erfolgte durch M.Sc. Nina Million⁸³. Die Durchführung der Konfokalmikroskopie erfolgte dabei mit technischer Unterstützung von M.Sc. Lisa Gamrad⁸⁴. Die Extrusion der Alginatlösungen wurde von M.Sc. Andreas Blaeser, die biologischen Testungen von M.Sc. Andreas Blaeser, M.Sc. Daniela Filipa Duarte Campos und M.Sc. Marius Köpf⁸⁵ durchgeführt und ausgewertet.

Zur Erzeugung der Nanopartikel-beladenen Alginate wurde, wie bereits in anderen Teilen dieser Arbeit beschrieben, der Laserabtrag in Flüssigkeiten verwendet, um eine direkte Einbettung der Nanopartikel in die Matrix zu gewährleisten. Der experimentelle Aufbau wurde in Kapitel 5.1 beschrieben. Die hier verwendete Batch-Abtragskammer, bestehend aus Teflon, umfasste ein Volumen von 30 ml, welches mit einer Alginatlösung (1,5 % (m/v)) gefüllt wurde. „Zur Herstellung dieser Lösung wurden 3 % (m/v) Natriumalginat in MilliQ-Wasser gelöst und auf 1,5 % (m/v) verdünnt, um die Viskosität von 3.289 mPa s [196] auf 346 mPa s [278] zu verringern. Dieser Schritt war notwendig, da die Effizienz des Laserabtrags stark von der Viskosität des Mediums beeinflusst wird. Je geringer die Viskosität ist, desto höher ist die Produktivität. [160] Der Abtrag erfolgte bei Raumtemperatur am Pikosekundenlaser bei einer Repetitionsrate von 100 kHz (160 µJ). Der Scanner wurde auf eine Spiralgeometrie mit einem Durchmesser von 6 mm eingestellt und eine Abtragsdauer von 2-3 (Gold) bzw. 5-7 Minuten (Eisen) gewählt.“ [197]⁸² Die Wahl der verwendeten Elemente beruht auf Publikationen, die zeigten, dass Gold-Nanopartikel die Oberfläche von Polymeren modifizieren und dadurch die Zelladhäsion und -proliferation verbessern können. [13] Eisen stellt einen essentiellen Bestandteil des Zellmetabolismus und der Zellproliferation dar [279] [280] und wurde daher als zweites Element gewählt, um diese Prozesse zu fördern.

⁸² Nano Research, Laser-based in situ embedding of metal nanoparticles into bioextruded alginate hydrogel tubes enhances human endothelial cell adhesion, 9(11), 2016, 3407-3427, A. Blaeser, N. Million, D. F. Duarte Campos, L. Gamrad, M. Köpf, C. Rehbock, M. Nachev, B. Sures, S. Barcikowski, and H. Fischer, Copyright Tsinghua University Press and Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2016. With permission of Springer. The final publication is available at Springer Nature via <http://dx.doi.org/10.1007/s12274-016-1218-3>.

⁸³ Technische Chemie I, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Stephan Barcikowski

⁸⁴ Technische Chemie I, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Stephan Barcikowski

⁸⁵ Universitätsklinikum RWTH Aachen, Zahnärztliche Werkstoffkunde und Biomaterialforschung, Leitung: Univ.-Prof. Dr.-Ing. Horst Fischer

Um die erfolgreiche Einbettung der Nanopartikel in die Alginatmatrix zu untersuchen, wurden TEM-Messungen durchgeführt. Die daraus erhaltenen Bilder und die daraus resultierenden Histogramme sind in Abbildung 79 dargestellt.

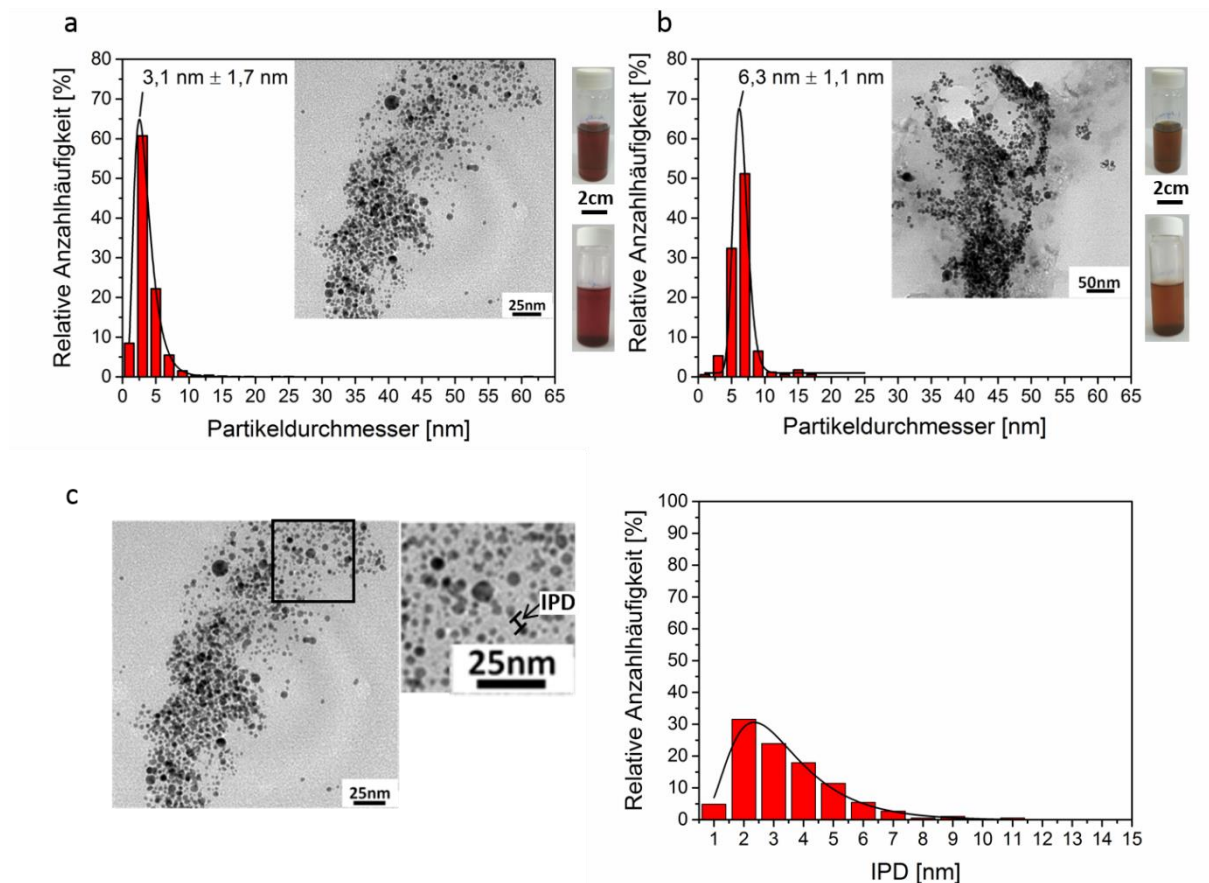


Abbildung 79: Transmissionselektronenmikroskopie zur Größenbestimmung von Nanopartikeln in Alginatlösungen nach dem Laserabtrag. Bilder rechts neben den Histogrammen zeigen die Probenlösungen nach dem Abtrag (oben) und nach 6 Monaten Lagerung (unten). Das Alginat wurde jeweils beladen mit Gold-Nanopartikeln (0,0053 wt%) (a) bzw. Eisen-Nanopartikeln (0,0116 wt%) (b). Aus den TEM-Bildern wurde der Interpartikelabstand (IPD) für Alginat beladen mit Gold-Nanopartikeln bestimmt (c). [197]⁸⁶

„Aus den TEM-Aufnahmen konnten mittels Partikelanzählung die zugehörigen Histogramme erstellt werden. Mittels einer Log-Normal-Funktion wurden die mittleren Durchmesser der Nanopartikel und der Polydispersitätsindex (PDI) der Verteilung ermittelt. Die Gold-Nanopartikel weisen einen mittleren Durchmesser von $3,1 \pm 1,7$ nm mit einem PDI von 0,3 auf (vgl. Abb. 79 a). Eisen-Nanopartikel weisen einen etwas größeren Durchmesser von $6,3 \pm 1,1$ nm auf, zeigen aber eine wesentlich schmalere

⁸⁶ Nano Research, Laser-based in situ embedding of metal nanoparticles into bioextruded alginate hydrogel tubes enhances human endothelial cell adhesion, 9(11), 2016, 3407-3427, A. Blaeser, N. Million, D. F. Duarte Campos, L. Gamrad, M. Köpf, C. Rehbock, M. Nachev, B. Sures, S. Barcikowski, and H. Fischer, Copyright Tsinghua University Press and Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2016. With permission of Springer. The final publication is available at Springer Nature via <http://dx.doi.org/10.1007/s12274-016-1218-3>.

Verteilung mit einem PDI von 0,03 (vgl. Abb. 79 b). Verschiedene Arbeitsgruppen haben bereits mittels γ -Bestrahlung oder photochemischer Reduktion unterschiedliche Nanopartikel in Alginat eingebracht und Durchmesser von < 10 nm (Gold- und Silber-Nanopartikel) [103], 5-20 nm (Gold-Nanopartikel) [96] und 5-30 nm (Silber-Nanopartikel) [91] ermittelt, was in guter Übereinstimmung mit den hier gezeigten Systemen ist. Die hier dargestellten Nanopartikel zeigen einen wesentlich kleineren Durchmesser auf, als solche Partikel, die üblicherweise mittels PLAL erhalten werden. Dies ist auf das Größenquenching durch die beim Abtrag gegenwärtigen Liganden zurückzuführen. [157] Diese Liganden, im hier gezeigten Fall gelöstes Alginat, führen zur sterischen Stabilisierung der Nanopartikel und dadurch zur Größenreduktion. Wie in den TEM-Aufnahmen in Abbildung 79 zu erkennen ist, akkumulieren die Nanopartikel innerhalb des Polymers. Um zu differenzieren, ob es sich dabei um Agglomerate oder Aggregate handelt, wurde der Interpartikelabstand (engl.: interparticle distance (IPD)) ermittelt und in Abbildung 79 c dargestellt. Da es sich bei Aggregaten um fest gebundene Partikel handelt, würde sich ein IPD von Null ergeben. Wie aber deutlich ersichtlich ist, konnte ein mittlerer IPD von 3 nm gemessen werden, wodurch auf eine Agglomeratbildung geschlossen werden kann. Es wird angenommen, dass dieser Freiraum mit Alginat gefüllt ist, was aber mittels TEM-Messungen nicht belegt werden konnte, da organische Materie im TEM einen zu niedrigen Kontrast aufweist. Die beobachtete lange Stabilität der Nanopartikel-Alginatlösungen über einen Zeitraum von sechs Monaten bestätigt allerdings diese Annahme. Die Lösungen (vgl. Abb. 79 a und b) zeigen keine Farbveränderung, was auf eine hervorragende sterische Stabilisierung durch Bildung einer Alginathülle um die einzelnen Partikel hinweist. Diese Langzeitstabilität über sechs Monate konnte auch bereits von Liu *et al.* mit Silber-Nanopartikeln in Natriumalginat gezeigt werden. [91]

Um ein Trägermaterial für Zellwachstumsvorgänge herzustellen, muss das hergestellte Material zusätzlich eine hohe Stabilität während der Weiterverarbeitung aufweisen. Im hier dargestellten Experiment wurden die Nanopartikel-beladenen Alginat zu Röhren extrudiert. Die Herstellung solcher Alginatröhren konnte bereits gezeigt werden, wobei die im Alginat befindlichen Zellen eine hohe Viabilität und Proliferation aufwiesen. [196] Die Umsetzung der Bioextrusion sollte nun auch mit Nanopartikel-beladenen Alginaten gezeigt werden.

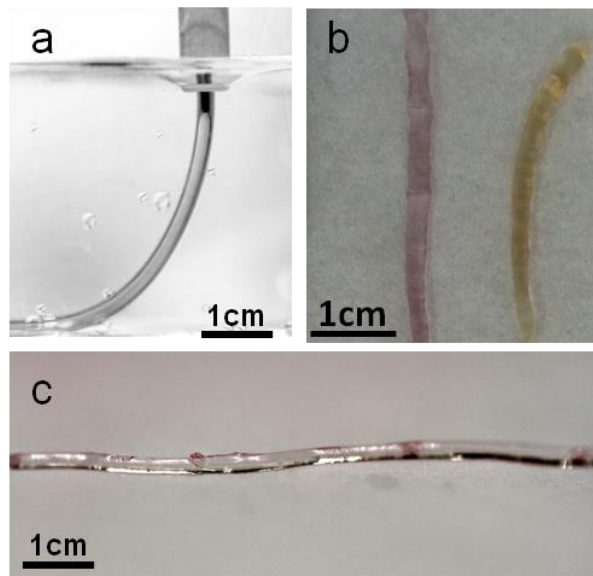


Abbildung 80: Foto der Bioextrusion (a). Die Extrusion führt zu dünnen und mehreren Zentimeter langen Alginatröhren, beladen mit Gold- (b, links und c) oder Eisen- (b, rechts) Nanopartikeln. [197]⁸⁷ Die Fotos in a und c wurden von M.Sc. Andreas Blaeser⁸⁸ erstellt und zur Verfügung gestellt. Das Foto in b entstand durch M.Sc. Nina Million⁸⁹.

Wie in Abbildung 80 zu erkennen ist, können mittels Extrusion mehrere Zentimeter lange, dünne Alginatröhren, beladen mit Nanopartikeln, hergestellt werden. Der Außendurchmesser dieser Röhren beträgt ca. 3 mm mit einer ungefähren Wandstärke von 150 μm . Die eingebetteten Nanopartikel scheinen den Extrusionsprozess nicht zu beeinflussen. Um die spätere Material-Zell-Interaktion zu verstehen, müssen die Röhren näher charakterisiert werden. Da sowohl die zweidimensionale, als auch die dreidimensionale Nanopartikelverteilung an der Oberfläche und im Volumen der Röhre wichtig sind, bietet sich die Untersuchung mittels Konfokalmikroskopie an. Gold- und Eisen-Nanopartikel konnten bereits zuvor im Konfokalmikroskop in z.B. Krebszellen [281] oder Oozyten und Spermien [194] dargestellt werden. Für die Analyse wurden die Röhren angefärbt, indem sie 30 s in einer 0,5 mM Thioninacetat-Lösung eingelegt und danach dreimal jeweils eine Minute mit MilliQ-Wasser gewaschen wurden. Die Röhren wurden längs ihrer Achse mit einem Skalpell aufgeschnitten (vgl. Abb. 81) und auf einen Objektträger gelegt, wobei die Außenseite der Röhre zur Objektträger-Oberfläche zeigte. Die Probe wurde mit einem

⁸⁷ Nano Research, Laser-based in situ embedding of metal nanoparticles into bioextruded alginate hydrogel tubes enhances human endothelial cell adhesion, 9(11), 2016, 3407-3427, A. Blaeser, N. Million, D. F. Duarte Campos, L. Gamrad, M. Köpf, C. Rehbock, M. Nachev, B. Sures, S. Barcikowski, and H. Fischer, Copyright Tsinghua University Press and Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2016. With permission of Springer. The final publication is available at Springer Nature via <http://dx.doi.org/10.1007/s12274-016-1218-3>.

⁸⁸ Universitätsklinikum RWTH Aachen, Zahnärztliche Werkstoffkunde und Biomaterialforschung, Leitung: Univ.-Prof. Dr.-Ing. Horst Fischer

⁸⁹ Technische Chemie I, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Stephan Barcikowski

Deckgläschen abgedeckt und die Ränder mit Nagellack versiegelt. Die so präparierten Proben wurden dann im Konfokalmikroskop untersucht.

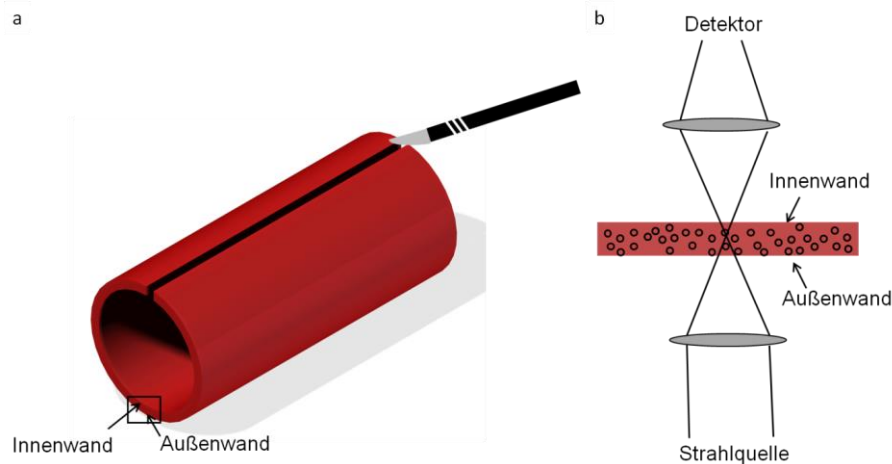


Abbildung 81: Darstellung der Präparation von Nanopartikel-beladenen Alginatröhren für die Konfokalmikroskopie (a). Der analysierte Bereich ist durch ein schwarzes Rechteck gekennzeichnet. Die Lage der Probe im Konfokalmikroskop ist in b dargestellt. [197]⁹⁰

Neben der Illustration der Präparation der Röhren, kennzeichnet Abbildung 81 a zudem den mittels Mikroskopie analysierten Bereich durch ein schwarzes Rechteck auf der Röhre. Die Lage der Probe im Konfokalmikroskop wird in Abbildung 81 b verdeutlicht. Zunächst wurde eine Ansicht der Nanopartikelverteilung in der gesamten Röhre erstellt (Abb. 82 b).

⁹⁰ Nano Research, Laser-based in situ embedding of metal nanoparticles into bioextruded alginate hydrogel tubes enhances human endothelial cell adhesion, 9(11), 2016, 3407-3427, A. Blaeser, N. Million, D. F. Duarte Campos, L. Gamrad, M. Köpf, C. Rehbock, M. Nachev, B. Sures, S. Barcikowski, and H. Fischer, Copyright Tsinghua University Press and Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2016. With permission of Springer. The final publication is available at Springer Nature via <http://dx.doi.org/10.1007/s12274-016-1218-3>.

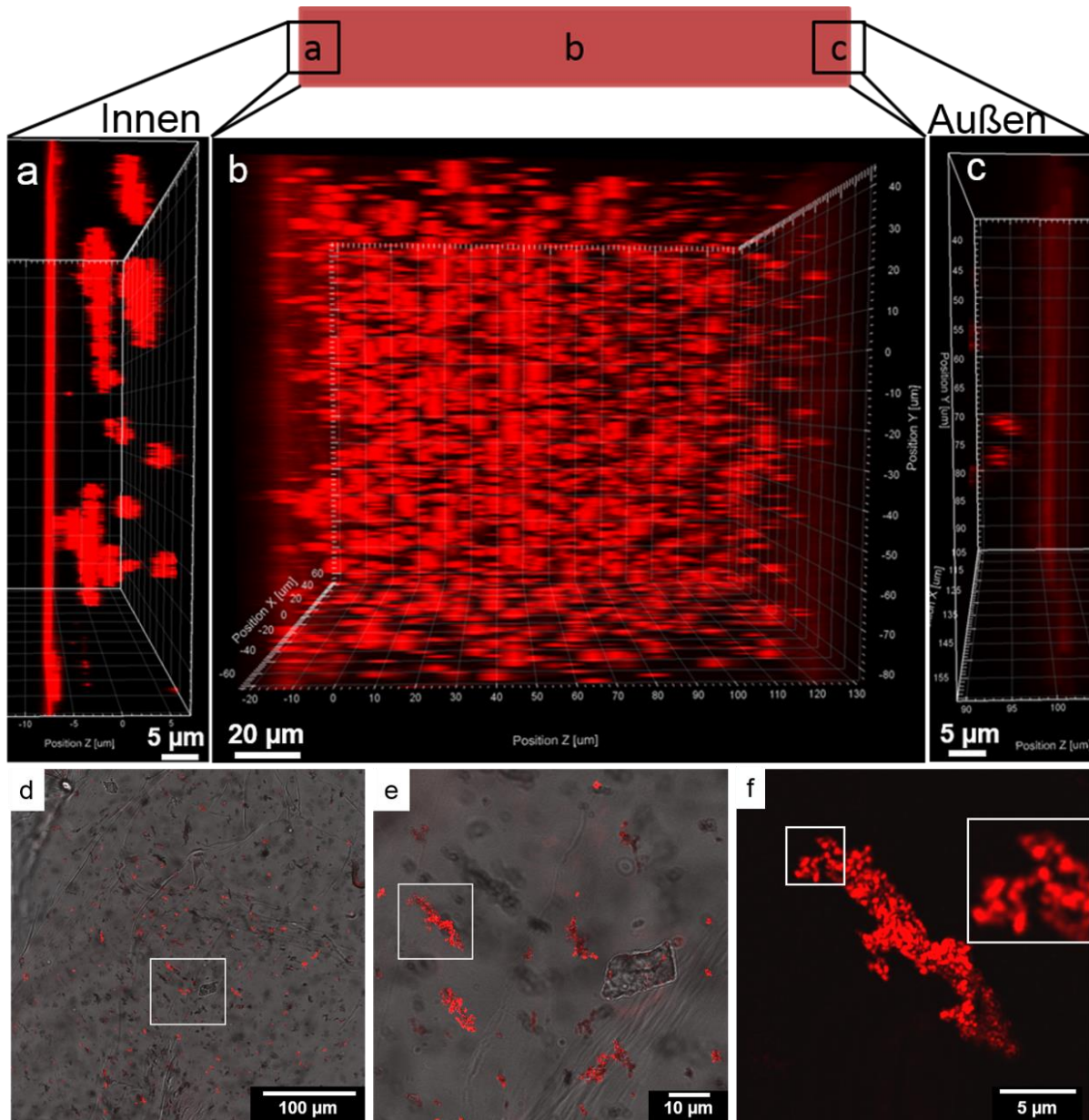


Abbildung 82: Konfokalmikroskopbilder von Alginatröhren beladen mit Gold-Nanopartikeln (0,0032 wt%).
 Abbildungen a, b und c zeigen die Nanopartikelverteilung in einem Totalscan (Schrittweite 5 µm) der Röhre (schwarzes Rechteck in Abbildung 81). a zeigt einen detaillierten Scan der Innenwand der Röhre (Schrittweite des Scans 1 µm), c ist auf die Außenwand fokussiert (Schrittweite des Scans 1 µm). Die Detailaufnahme in d veranschaulicht die Nanopartikelverteilung in einer Ebene der Röhre. Die Ausschnitte e und f zeigen Vergrößerungen des gekennzeichneten Bereichs in d. [197]⁹¹

In Abbildung 82 a bis c kennzeichnet die z-Achse die Scanrichtung von der Innenwand der Röhre (kleiner z-Wert) zur Außenwand (großer z-Wert). Der Totalscan in Abbildung 82 c zeigt eine homogene Verteilung der Nanopartikel über das gesamte

⁹¹ Nano Research, Laser-based in situ embedding of metal nanoparticles into bioextruded alginate hydrogel tubes enhances human endothelial cell adhesion, 9(11), 2016, 3407-3427, A. Blaeser, N. Million, D. F. Duarte Campos, L. Gamrad, M. Köpf, C. Rehbock, M. Nachev, B. Sures, S. Barcikowski, and H. Fischer, Copyright Tsinghua University Press and Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2016. With permission of Springer. The final publication is available at Springer Nature via <http://dx.doi.org/10.1007/s12274-016-1218-3>.

Röhrenvolumen in z-Richtung. Dass diese Verteilung auch in x-Richtung, also über die gesamte Röhrenlänge, besteht, konnte in einer Videoaufnahme bestätigt werden. Aus dem Mikroskopiebild lässt sich eine Wandstärke von 140 μm ablesen, was nur minimal von den zuvor postulierten 150 μm abweicht. In mehreren Arbeiten wurde bereits nachgewiesen, dass die Einbettung von Nanopartikeln in eine Polymermatrix die Oberflächenstruktur dieser Matrix verändern kann, auch wenn keine Nanopartikel direkt auf oder an der Oberfläche liegen. [13] [23] [282] [283] Freiliegende Partikel auf einer Oberfläche jedoch können direkt mit Zellen in Kontakt treten und mit ihnen wechselwirken. [109] [284] [285] [286] [287] Um beurteilen zu können, ob solche Wechselwirkungen bei den Nanopartikel-beladenen Alginatröhren möglich sind, wurden Nahaufnahmen der Randbereiche an der Innen- und Außenwand erstellt (Abb. 82 a, c). Diese zeigen, dass die Partikel nahe an den Wänden lokalisiert sind, aber diese nicht durchbrechen oder frei auf der Oberfläche vorliegen. Durch den direkten Laserabtrag in der Alginatlösung wurden die Nanopartikel *in situ* durch eine Polymerschicht bedeckt und somit von ihrer Umgebung abgeschirmt. [19] [137] Sie tragen damit nicht zur Oberflächenstruktur bei. Bereits in den TEM-Aufnahmen der Nanopartikel-Alginatlösung zur Größenbestimmung wurden Agglomerate von einigen 100 nm vorgefunden, die aus vielen kleinen Einzelpartikeln bestanden. Betrachtet man nun nur eine Ebene der Röhre (Abb. 82 d bis f), so können auch hier diese Agglomerate erkannt werden. Die Vergrößerung in Abbildung 82 f zeigt Agglomerate, die aus einer Ansammlung kleinerer Agglomerate um die 400 nm bestehen. Auch nach der Extrusion sind die Interpartikelabstände deutlich zu erkennen. Klein *et al.* definierten, dass das kleinste, einzelne Nanopartikelagglomerat, was im Konfokalmikroskop detektiert werden kann mindestens 60 nm groß sein muss. [192] Detektierte Signale von Partikelansammlungen, deren Einzeldurchmesser unterhalb der optischen Auflösung vom Mikroskop liegen werden als ein Punkt dargestellt, dessen Signalintensität mit der Anzahl der Partikel in der Ansammlung korreliert werden kann. [288] Einzelpartikel von 3 nm Größe können wegen ihres geringen Streuquerschnitts hingegen nicht mittels Konfokalmikroskopie beobachtet werden. Während der Partikeldetektion können falsch positive Signale durch die Matrix verursacht werden, welche als intensiv rote Balken an den Enden der Röhrenwand sichtbar sind (vgl. Abb. 82 a, c). Die Wellenlänge, die zur Visualisierung der Partikel verwendet wurde (532 nm), ist ebenfalls eine Anregungswellenlänge des Farbstoffs in

der Matrix, wenn auch nicht im Maximum. Das resultierende Signal ist jedoch leicht von den Signalen der Nanopartikel zu unterscheiden.

Die Signale bei der Betrachtung nur einer Ebene der Röhre werden beeinflusst durch die darunterliegenden Ebenen. Dies ist in Abbildung 83 a bis c veranschaulicht. Man erkennt auch hier eine homogene Verteilung der Nanopartikel im gesamten betrachteten Bereich. Nanopartikel, die bei 532 nm detektiert wurden, werden rot (Abb. 83 a), im DIC (Abb. 83 b) jedoch als schwarze Punkte dargestellt. Bei der Überlagerung der beiden Aufnahmen (Abb. 83 c) sieht man einige schwarze Punkte, die nicht mit roten Signalen überlagert sind. Auch diese stellen Nanopartikel dar, jedoch befinden sich diese in einer tieferliegenden Ebene als die betrachtete.

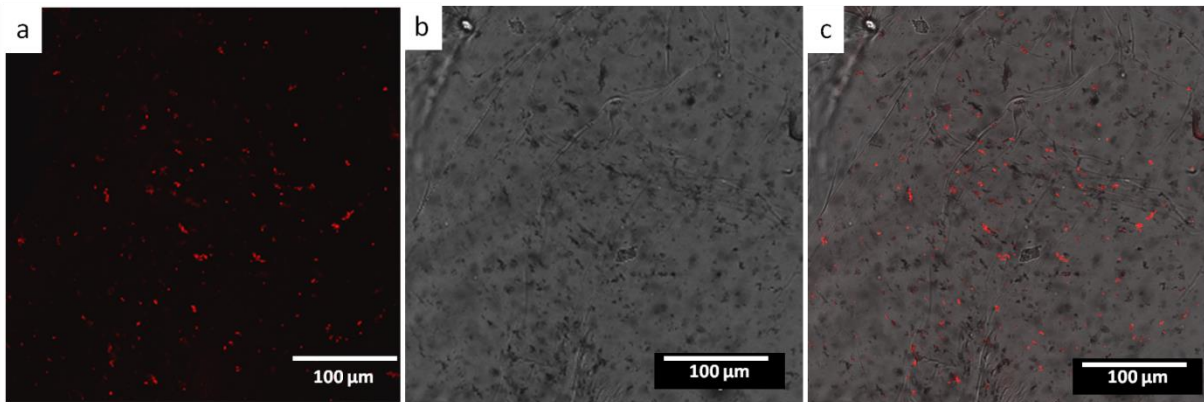


Abbildung 83: Konfokalmikroskopbilder von Alginatröhren mit Gold-Nanopartikeln (0,0032 wt%) in einer Ebene der Röhre (schwarzes Rechteck in Abbildung 81). Die Detailaufnahme a zeigt die Detektion von Nanopartikeln, b zeigt die Kontrastaufnahme der Matrix und c ist eine Überlagerung von a und b. [197]⁹²

Auch die Eisen-beladenen Alginatröhren wurden zur Bestätigung der Erkenntnisse mittels Konfokalmikroskopie untersucht. Wie in Abbildung 84 a bis c zu erkennen ist, liegt auch hier eine homogene Verteilung der Nanopartikel im gesamten Volumen vor. Die Nanopartikel liegen nahe der Röhrenwand, aber nicht außerhalb. Die Vergrößerung in Abbildung 84 d bestätigt erneut die Ansammlung der Partikel in Form von Agglomeraten, bestehend aus kleineren Agglomeraten von weniger als 6 nm Primärpartikelgröße.“ [197]⁹²

⁹² Nano Research, Laser-based in situ embedding of metal nanoparticles into bioextruded alginate hydrogel tubes enhances human endothelial cell adhesion, 9(11), 2016, 3407-3427, A. Blaeser, N. Million, D. F. Duarte Campos, L. Gamrad, M. Köpf, C. Rehbock, M. Nachev, B. Sures, S. Barcikowski, and H. Fischer, Copyright Tsinghua University Press and Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2016. With permission of Springer. The final publication is available at Springer Nature via <http://dx.doi.org/10.1007/s12274-016-1218-3>.

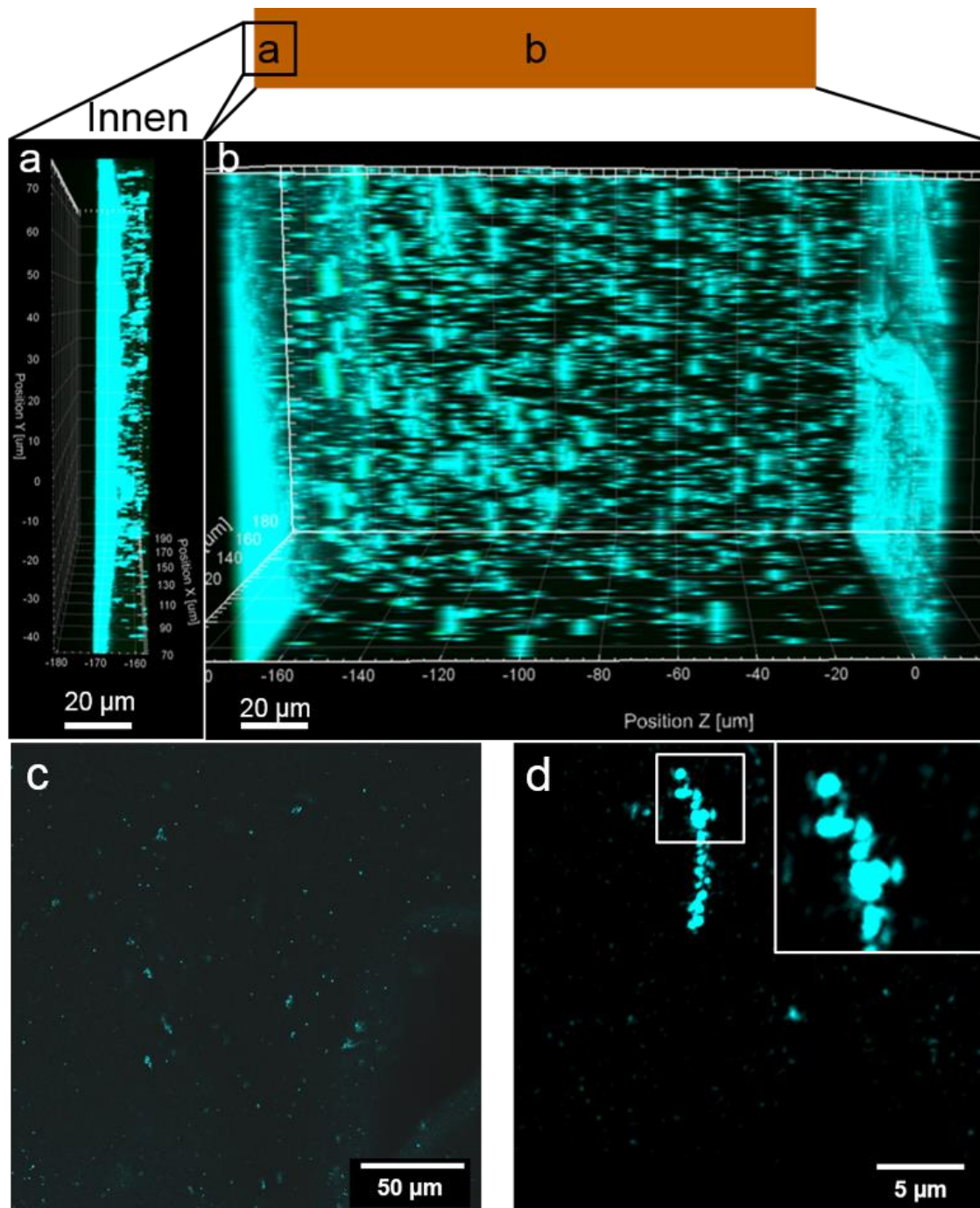


Abbildung 84: Konfokalmikroskopbilder von Alginate-Röhren beladen mit Eisen-Nanopartikeln (0,0034 wt%).

Abbildungen a und b zeigen die Nanopartikelverteilung in einem Totalscan (Schrittweite 5 μm) der Röhre (schwarzes Rechteck in Abbildung 81). a zeigt einen detaillierten Scan der Innenwand der Röhre (Schrittweite des Scans 0,5 μm). Die Detailaufnahme in c veranschaulicht die Nanopartikelverteilung in einer Ebene der Röhre.

Der Ausschnitt d zeigt eine Vergrößerung von d. [197]⁹³

⁹³ Nano Research, Laser-based in situ embedding of metal nanoparticles into bioextruded alginate hydrogel tubes enhances human endothelial cell adhesion, 9(11), 2016, 3407-3427, A. Blaeser, N. Million, D. F. Duarte Campos, L. Gamrad, M. Köpf, C. Rehbock, M. Nachev, B. Sures, S. Barcikowski, and H. Fischer, Copyright Tsinghua University Press and Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2016. With permission of Springer. The final publication is available at Springer Nature via <http://dx.doi.org/10.1007/s12274-016-1218-3>.

Für die Verifizierung, dass die gemessenen Signale im Konfokalmikroskop tatsächlich Nanopartikel darstellen, wurde eine Alginatröhre ohne Nanopartikelbeladung analysiert (vgl. Abb. 85).

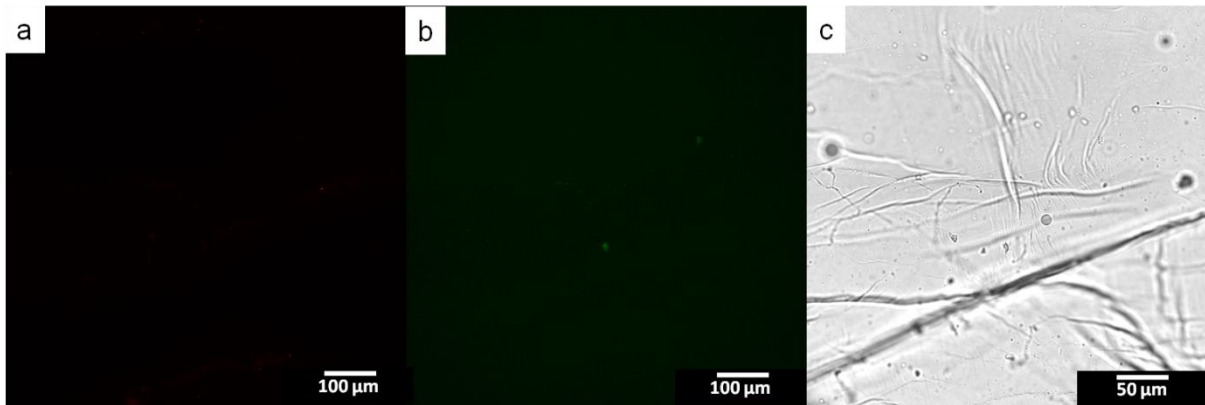


Abbildung 85: Konfokalmikroskopbilder von Alginatröhren ohne Nanopartikelbeladung in einer Ebene der Röhre (schwarzes Rechteck in Abbildung 81). Die Detailaufnahmen a und b zeigen die Detektion von Nanopartikeln (Gold oder Eisen) und c zeigt die Kontrastaufnahme der Matrix.

Es ist deutlich zu erkennen, dass bei den Wellenlängen, die in den anderen Fällen zur Partikeldetektion verwendet wurden, keinerlei Signale aufgenommen werden konnten. Auch im DIC der Matrix sind keine schwarzen Punkte, die zuvor als Nanopartikel identifiziert wurden, zu erkennen. Dadurch ist erwiesen, dass es sich bei den zuvor beschriebenen Signalen um Nanopartikel handeln muss.

Zur Bestimmung der mechanischen Eigenschaften der Nanopartikel-beladenen Hydrogele wurden zunächst Zugfestigkeitstestungen durchgeführt, welche in Abbildung 86 dargestellt sind.

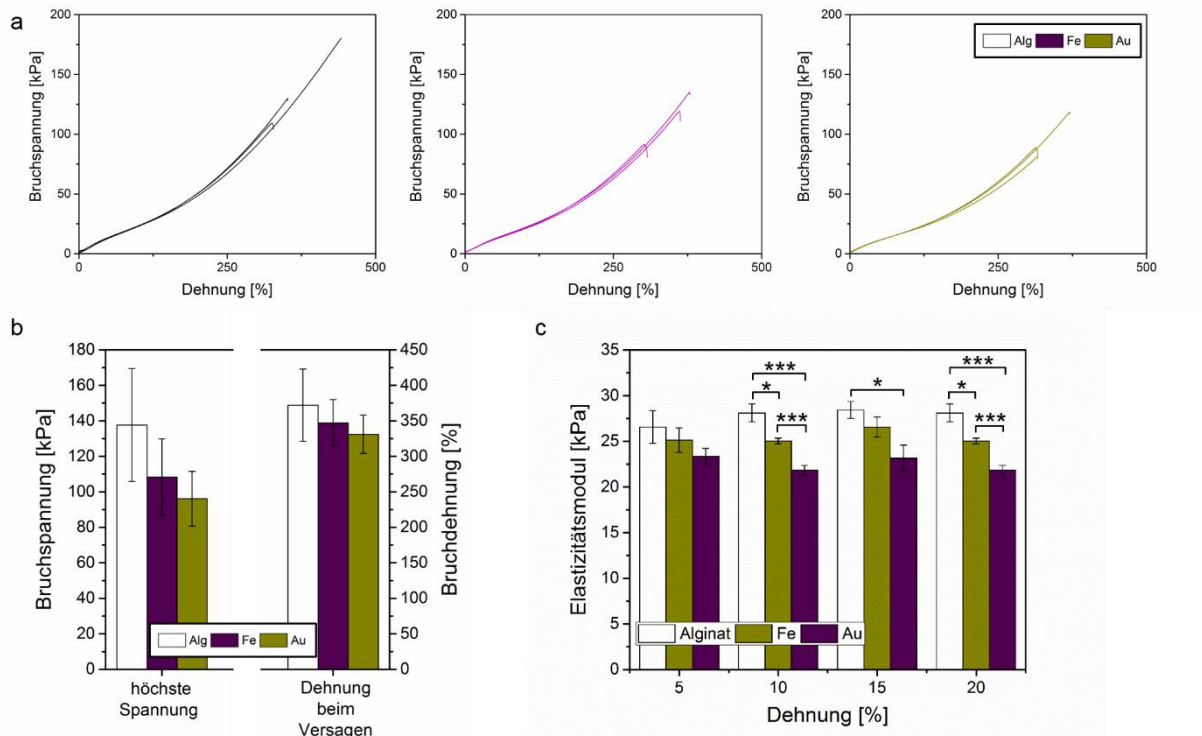


Abbildung 86: Zugfestigkeitstestungen von unbeladenem Alginat (Alg) und Alginaten beladen mit Eisen-Nanopartikeln (Fe) (0,007 wt%) bzw. Gold-Nanopartikeln (Au) (0,0043 wt%) (a). Ab einer Dehnung von 40 % tritt Wasser aus den Gelen aus, was durch einen Knick im Graphen sichtbar ist. Die jeweils drei Kurven je Graph stellen die durchgeführten Dreifachmessungen dar. Die maximale Spannung und Dehnung beim Versagen (b) sowie das Elastizitätsmodul für vier verschiedene Dehnungswerte (c) wurden bestimmt. Die Signifikanz ist mit $p < 0,05$ (*) und $p < 0,005$ (***) angegeben. [197]⁹⁴ Die Herstellung der Nanopartikel-beladenen Alginatlösungen erfolgte durch M.Sc. Nina Million⁹⁵. Die Herstellung der Probenplättchen, die Durchführung der mechanischen Testungen sowie deren Auswertung und graphische bzw. bildliche Darstellung erfolgte durch M.Sc. Andreas Blaeser⁹⁶.

Abbildung 86 a zeigt die Bruchspannung gegen die Dehnung. „Ab einem Dehnungswert von 40 % tritt Wasser aus den Gelen aus, resultierend in einem Knick im Graphen. Bis zu einem Wert von 331-372 % ist eine Dehnung der Gele möglich, danach tritt das Versagen des Materials auf. Die maximale Spannung variiert zwischen 96 kPa (für Gold-Nanopartikel-beladene Alginat) und 138 kPa (für unbeladene Alginat). Auch wenn die Unterschiede der maximalen Spannungen und Dehnungswerte beim Versagen der Gele nicht signifikant sind, zeigen diese doch den Trend, dass unbeladene Alginat leicht stabiler zu sein scheinen als die Nanopartikel-

⁹⁴ Nano Research, Laser-based in situ embedding of metal nanoparticles into bioextruded alginate hydrogel tubes enhances human endothelial cell adhesion, 9(11), 2016, 3407-3427, A. Blaeser, N. Million, D. F. Duarte Campos, L. Gamrad, M. Köpf, C. Rehbock, M. Nachev, B. Sures, S. Barcikowski, and H. Fischer, Copyright Tsinghua University Press and Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2016. With permission of Springer. The final publication is available at Springer Nature via <http://dx.doi.org/10.1007/s12274-016-1218-3>.

⁹⁵ Technische Chemie I, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Stephan Barcikowski

⁹⁶ Universitätsklinikum RWTH Aachen, Zahnärztliche Werkstoffkunde und Biomaterialforschung, Leitung: Univ.-Prof. Dr.-Ing. Horst Fischer

beladenen Gele (vgl. Abb. 86 b). Dabei scheinen die Gold-beladenen Gele am schwächsten zu sein. Dieser Trend wird durch die Messung des Elastizitätsmoduls bestätigt. Durch den Wasserverlust ab einer Dehnung von 40 % und höher, werden in Abbildung 86 c Dehnungswerte von 5, 10, 15 und 20 % dargestellt. Auch hier scheint das unbeladene Gel mit 28,8 kPa ein höheres Elastizitätsmodul zu haben als die Nanopartikel-beladenen Gele mit 25,4 kPa (Eisen-beladen) und 22,5 kPa (Gold-beladen). Dabei ist das Modul der Gold-beladenen Gele signifikant kleiner als das der Eisen-beladenen Gele. Diese Ergebnisse weisen eindeutig auf einen Einfluss der Nanopartikel auf die mechanischen Eigenschaften der Alginathydrogele hin. Für diesen Effekt können zwei Erklärungsansätze herangezogen werden. Zunächst könnte der Laserprozess den Zusammenhalt der Polymerketten und damit die Vernetzung des Gels verschlechtert haben. Des Weiteren ist es denkbar, dass die Einbringung der Nanopartikel die Vernetzungsstruktur des Gels direkt beeinflusst. Das höhere Elastizitätsmodul der Eisen-beladenen Gele im Vergleich zu den Gold-beladenen kann auf die physikalischen Unterschiede dieser beiden Materialien zurückgeführt werden. Es ist bekannt, dass Eisen eine Affinität dazu zeigt mit den Alginatketten zu binden [289] [290], wohingegen die inerten Gold-Nanopartikel die Bindungen möglicherweise brechen können. Ebenfalls denkbar ist eine schlechtere Wechselwirkung des hydrophilen Alginats mit den hydrophoben Gold-Nanopartikeln und dadurch schlechteren Einbettung der Nanopartikel. Dadurch wird die Vernetzungsstruktur des Hydrogels stark verändert.

Die Beeinflussung der Gelvernetzung kann zudem durch die Analyse des Quellverhaltens betrachtet werden. Außerdem erfolgten zusätzlich die Bestimmung der Hydrophilie der hergestellten Gele und eine Betrachtung des Freisetzungsverhaltens von Eisenionen aus diesen Gelen (vgl. Abb. 87).

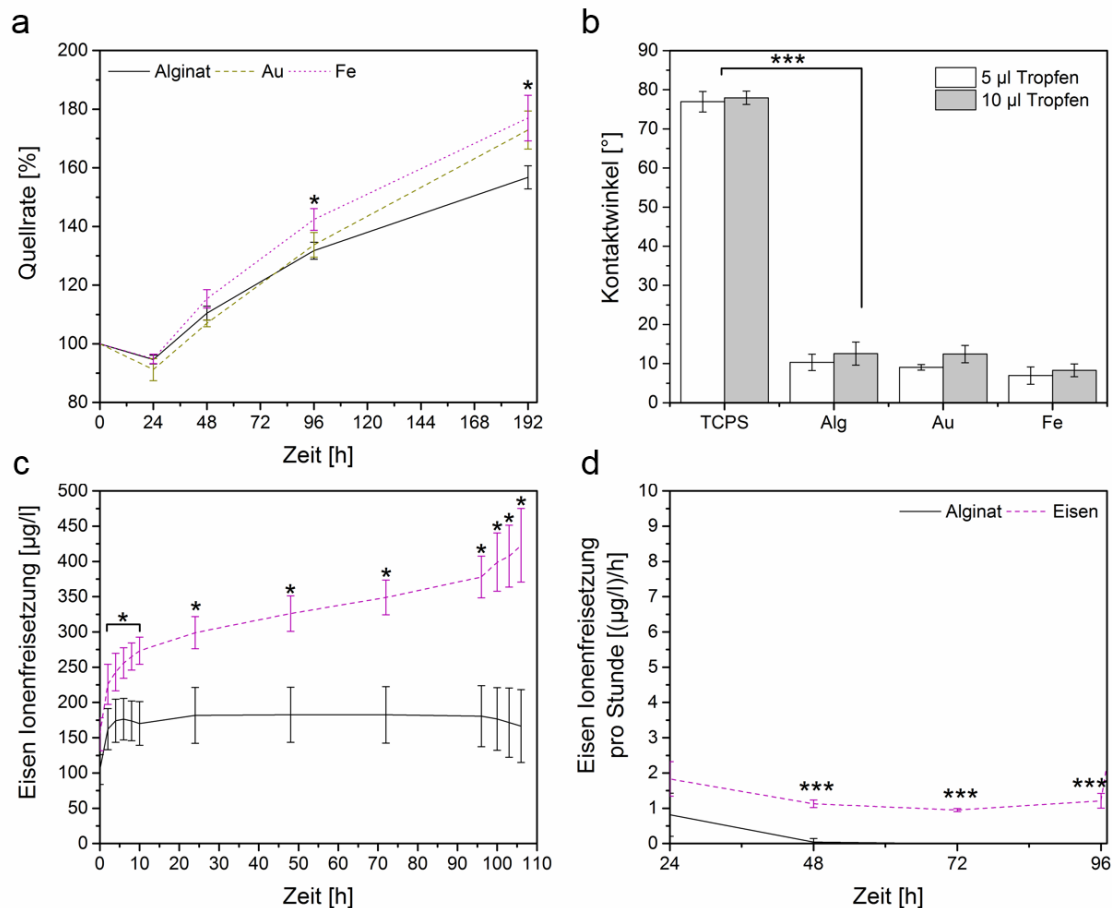


Abbildung 87: Quellverhalten (a), Hydrophilie (b) und Ionenfreisetzung (c und d) von unbeladenen Alginatgelen und Alginaten beladen mit Eisen-Nanopartikeln (Fe) (0,007 wt%) bzw. Gold-Nanopartikeln (Au) (0,0043 wt%). Zur

Veranschaulichung wurde sowohl die akkumulierte Freisetzung (c) als auch die mittlere Ionenfreisetzung pro Stunde (d) aufgetragen. Die Signifikanz ist mit $p < 0,05$ (*) und $p < 0,005$ (***) angegeben. [197]⁹⁷ Die Herstellung der Nanopartikel-beladenen Alginatlösungen sowie die Plättchenherstellung für die Ionenfreisetzung erfolgte durch M.Sc. Nina Million und M.Sc. Anna Tymoczko⁹⁸. Die Freisetzungsexperimente erfolgten durch Dr. Milen Nachev⁹⁹. Die Herstellung der Probenplättchen, die Durchführung der mechanischen Testungen sowie deren Auswertung und graphische bzw. bildliche Darstellung erfolgte durch M.Sc. Andreas Blaeser¹⁰⁰.

Durch die Integration von Nanopartikeln wird eine nicht signifikante Zunahme der Quellrate erzeugt (vgl. Abb. 87 a). Während für unbeladenes Alginat nach 8 Tagen eine Volumenzunahme von lediglich 57 % beobachtet wird, zeigen Nanopartikel-beladene Gele eine Zunahme von lediglich 73 % (Au) bzw. 77 % (Fe). Ähnliche Effekte konnten bereits von Ahmed *et al.* beobachtet werden und wurden auf eine Vergrößerung des

⁹⁷ Nano Research, Laser-based in situ embedding of metal nanoparticles into bioextruded alginate hydrogel tubes enhances human endothelial cell adhesion, 9(11), 2016, 3407-3427, A. Blaeser, N. Million, D. F. Duarte Campos, L. Gamrad, M. Köpf, C. Rehbock, M. Nachev, B. Sures, S. Barcikowski, and H. Fischer, Copyright Tsinghua University Press and Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2016. With permission of Springer. The final publication is available at Springer Nature via <http://dx.doi.org/10.1007/s12274-016-1218-3>.

⁹⁸ Technische Chemie I, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Stephan Barcikowski

⁹⁹ Aquatische Ökologie, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Bernd Sures

¹⁰⁰ Universitätsklinikum RWTH Aachen, Zahnärztliche Werkstoffkunde und Biomaterialforschung, Leitung: Univ.-Prof. Dr.-Ing. Horst Fischer

Polymernetzwerks durch die Nanopartikel zurückgeführt. [291] Die Ergebnisse der Quellversuche werden durch die zuvor gemessenen Elastizitätsmodule untermauert. Im Gegensatz zum Quellverhalten kann keine Veränderung der Hydrophilie der Gele durch Nanopartikelintegration beobachtet werden (vgl. Abb. 87 b). Die gemessenen Kontaktwinkel schwanken zwischen 7° und $12,5^\circ$ und zeigen keine signifikanten Unterschiede. Der damit nachgewiesene stark hydrophile Charakter der Alginatgele wird durch den Vergleich mit stark hydrophoben Polystyrol (engl.: tissue culture polystyrene) (TCPS) mit einem Kontaktwinkel von $77-78^\circ$ verdeutlicht. Alginat ist demnach bereits stark hydrophil und kann durch Zusatz von Nanopartikeln in seiner Oberflächenladung nicht mehr verändert werden.

Bei der Analyse der Freisetzung von Eisenionen aus den verwendeten Alginatproben kann zunächst innerhalb der ersten 24 h ein schlagartiger Anstieg der Ionenkonzentration beobachtet werden. Danach erfolgt eine kontinuierliche Freisetzung über einen Zeitraum von 24-96 h mit einer Rate von $0,95-1,20 \mu\text{g/l}$ pro Stunde (vgl. Abb. 87 c, d). Es ist dabei anzumerken, dass die freigesetzte Menge an Eisen aus den Eisen-beladenen Gelen deutlich größer ist, als diese aus einem unbeladenen Alginatgel. Im Gegensatz zum Eisen-beladenen Gel nimmt die Freisetzung von Eisenionen aus unbeladenem Alginat nach 48 h fast vollständig ab. Eine Abgabe von Eisenionen aus unbeladenen Alginaten kann auf mögliche Eisenspuren im Alginat zurückgeführt werden. Die in Abbildung 87 c sichtbare sprunghafte Zunahme der Eisenfreisetzung zwischen 96 und 106 Stunden des Eisen-beladenen Gels findet aufgrund des häufigeren Mediumaustauschs am Ende des Experiments statt, wodurch der Konzentrationsgradient erhöht und die Freisetzung beschleunigt wurde.

Für die biologischen Testungen wurden zur Vereinfachung der Zellbesiedelungs- und der Mikroskopieuntersuchungen Plättchen anstelle von Röhren verwendet. Um die Zellreaktionen auf das synthetisierte Material zu testen, wurden zwei unterschiedlich sensitive Zellarten verwendet. Für die Beurteilung der Zytotoxizität wurden L929 Mausfibroblasten mit einer niedrigen Sensitivität benutzt, um mögliche Zellreaktionen aufzuzeigen. Die Morphologie und die Viabilität der Zellen wurden sowohl in einem zweidimensionalen als auch in einem dreidimensionalen Versuchsaufbau untersucht. Die Viabilität wurde dabei durch das Auszählen von lebenden und toten Zellen beurteilt.

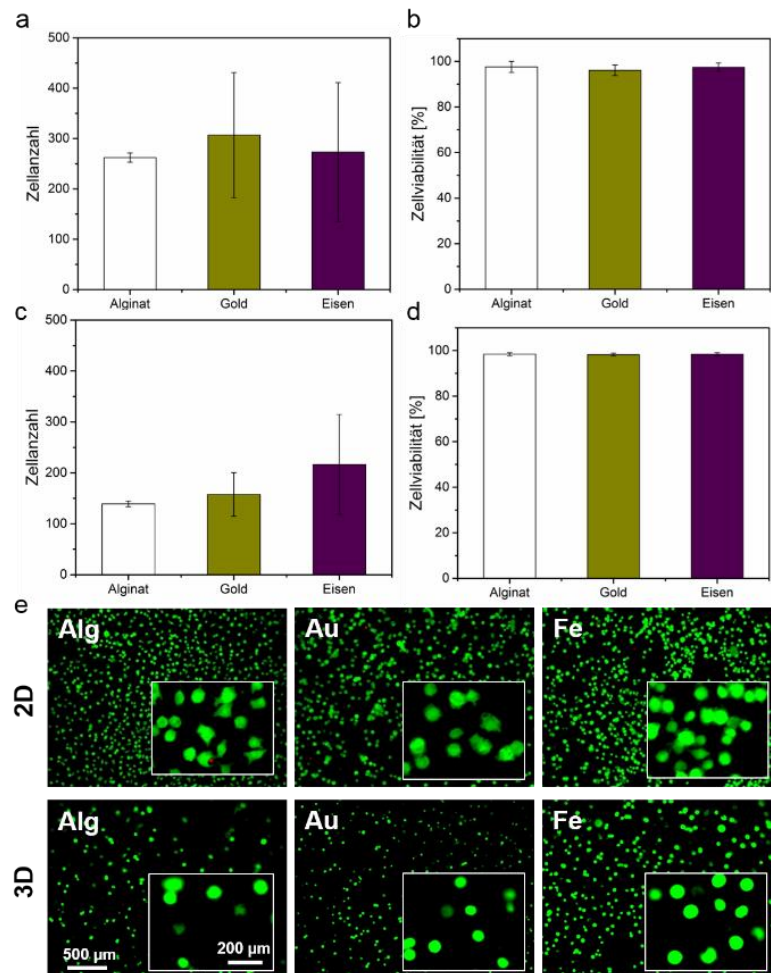


Abbildung 88: Viabilität- und Morphologieanalyse von L929 Fibroblasten im 2D- (a und b) und 3D-Aufbau (c und d) mit Nanopartikel-beladenen und unbeladenen Alginatplättchen. In der 2D-Durchführung enthalten die Plättchen 0,0082 wt% Gold- bzw. 0,0116 wt% Eisen-Nanopartikel. Die verwendeten Plättchen in den 3D-Experimenten enthalten Nanopartikel in der Hälfte der Konzentration der 2D-Experimente. Die Fluoreszenz-Aufnahmen in e ermöglichen eine Beurteilung der Morphologie. [197]¹⁰¹ Die Herstellung der Nanopartikel-beladenen Alginatlösungen erfolgte durch M.Sc. Nina Million¹⁰². Die Herstellung der Probenplättchen, die Durchführung der Zelleperimente sowie deren Auswertung und graphische bzw. bildliche Darstellung erfolgte durch M.Sc. Andreas Blaeser¹⁰³.

Wie in Abbildung 88 a bis d zu sehen ist, treten nach sieben Tagen Inkubation keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Zellanzahl lebender Zellen und der Viabilität zwischen der Kontrollprobe, unbeladenem Alginat, und den Nanopartikel-beladenen Proben auf. Die Zellen sind sphärisch, scheinen jedoch im 2D-Test eine leichte Ausbreitung aufzuzeigen, was ein Anzeichen für Adhäsion darstellt (vgl. Abb. 88 e).

¹⁰¹ Nano Research, Laser-based in situ embedding of metal nanoparticles into bioextruded alginate hydrogel tubes enhances human endothelial cell adhesion, 9(11), 2016, 3407-3427, A. Blaeser, N. Million, D. F. Duarte Campos, L. Gamrad, M. Köpf, C. Rehbock, M. Nachev, B. Sures, S. Barcikowski, and H. Fischer, Copyright Tsinghua University Press and Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2016. With permission of Springer. The final publication is available at Springer Nature via <http://dx.doi.org/10.1007/s12274-016-1218-3>.

¹⁰² Technische Chemie I, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Stephan Barcikowski

¹⁰³ Universitätsklinikum RWTH Aachen, Zahnärztliche Werkstoffkunde und Biomaterialforschung, Leitung: Univ.-Prof. Dr.-Ing. Horst Fischer

Da kein Einfluss der Nanopartikel auf die Viabilität und Morphologie der Zellen zu beobachten ist, kann geschlussfolgert werden, dass für Konzentrationen von 82 ppm (Gold) und 116 ppm (Eisen) keine Zytotoxizität vorliegt.

Da das Nanopartikel-beladene Alginate als Wachstumsplattform für Zellen fungieren soll, z.B. für Endothelzellen, wurden für die Testungen zur Funktionalität im Hinblick auf die Adhäsion von Zellen sensitivere Zellen verwendet. Die HUVECs (humane Endothelzellen) wurden lediglich im 2D-Aufbau getestet, da nur die Oberfläche für das Wachstum ausschlaggebend ist. Die Zellreaktion wurde nach drei und sieben Tagen überprüft.

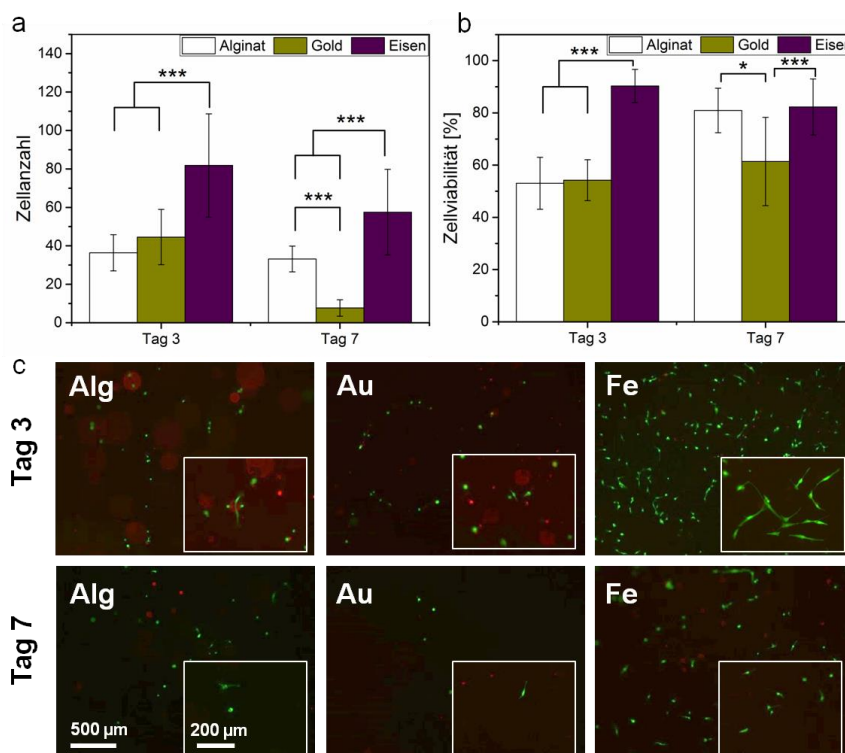


Abbildung 89: Viabilität- und Morphologieanalyse von HUVECs im 2D-Aufbau mit Nanopartikel-beladenen und unbeladenen Alginateplättchen. Die durchschnittliche Anzahl an Zellen (a) und die Zellviabilität (b) sind für die Versuchstage 3 und 7 gezeigt. Die Plättchen enthalten 0,0082 wt% Gold- bzw. 0,0116 wt% Eisen-Nanopartikel.

Die Fluoreszenz-Aufnahmen ermöglichen eine Beurteilung der Morphologie. [197]¹⁰⁴ Die Herstellung der Nanopartikel-beladenen Alginatelösungen erfolgte durch M.Sc. Nina Million¹⁰⁵. Die Herstellung der Probenplättchen, die Durchführung der Zelleexperimente sowie deren Auswertung und graphische bzw. bildliche Darstellung erfolgte durch M.Sc. Andreas Blaesser¹⁰⁶.

¹⁰⁴ Nano Research, Laser-based in situ embedding of metal nanoparticles into bioextruded alginate hydrogel tubes enhances human endothelial cell adhesion, 9(11), 2016, 3407-3427, A. Blaesser, N. Million, D. F. Duarte Campos, L. Gamrad, M. Köpf, C. Rehbock, M. Nachev, B. Sures, S. Barcikowski, and H. Fischer, Copyright Tsinghua University Press and Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2016. With permission of Springer. The final publication is available at Springer Nature via <http://dx.doi.org/10.1007/s12274-016-1218-3>.

¹⁰⁵ Technische Chemie I, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Stephan Barcikowski

¹⁰⁶ Universitätsklinikum RWTH Aachen, Zahnärztliche Werkstoffkunde und Biomaterialforschung, Leitung: Univ.-Prof. Dr.-Ing. Horst Fischer

In Abbildung 89 a und b deutlich erkennbar sind die signifikanten Unterschiede zwischen den verwendeten Materialien. Bereits nach drei Tagen ist die Anzahl an lebenden Zellen signifikant höher bei Eisen-beladenen Proben im Vergleich zu den Gold-beladenen oder unbeladenen Proben. Neben dieser guten Adhäsion weisen die Eisenproben mit 90 % auch die höchste Viabilität aller Proben auf. Es konnte jedoch keine Proliferation beobachtet werden. Von Tag 3 auf Tag 7 fällt die Anzahl an lebenden Zellen ab, wenn auch nicht signifikant. Abbildung 89 c zeigt die Fluoreszenzaufnahmen zur Beurteilung der Morphologie der Zellen. Es kann im Falle der Eisen-beladenen Alginate eine deutlich veränderte Zellmorphologie nach drei Tagen beobachtet werden. Die Zellen sind in die Länge gezogen, was ein deutliches Signal für die Zellausbreitung und Anhaftung darstellt. Die längliche Struktur von Endothelzellen konnte bereits bei der Besiedelung von Poly(ether)urethan mit eingebetteten Gold-Nanopartikeln beobachtet werden. [23] In dem hier gezeigten Fall ist diese Zellverlängerung bei Eisen-beladenem Alginat stärker ausgeprägt, als bei allen anderen Proben.

In einem weiteren Zellexperiment wurde der Effekt der Nanopartikel auf die Expression von Aktin, die Adhäsion und Verbreiterung von HUVECs mittels Immunofluoreszenz-Mikroskopie untersucht (vgl. Abb. 90).

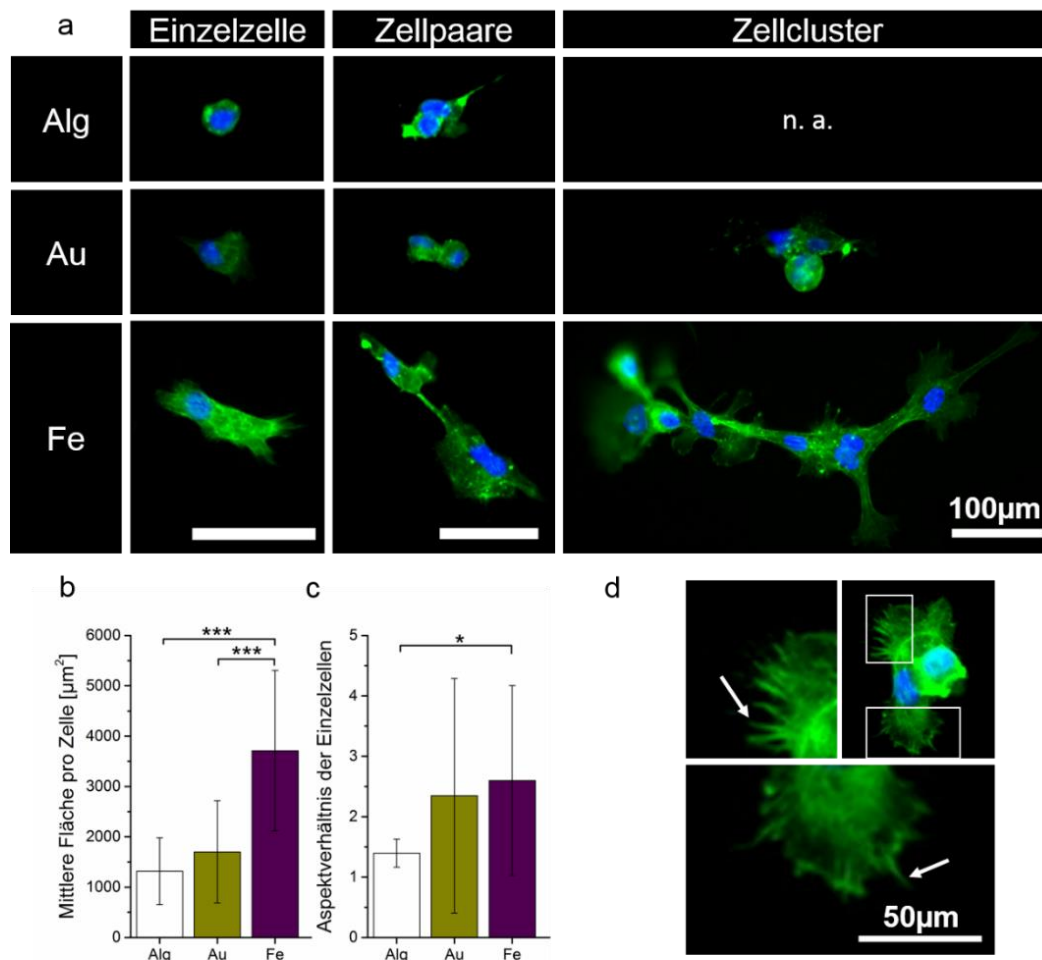


Abbildung 90: Immunfluoreszenz-Bilder von HUVECs, welche auf Alginatplättchen kultiviert wurden (a). Aktinfilamente werden durch grüne Fluoreszenz dargestellt. Der Zellkern zeigt eine blaue Fluoreszenz. Die Fläche von Einzelzellen, bedeckt mit Aktinfilamenten, (b) und das Aspektverhältnis der Zellen (c) wurden untersucht. HUVECs, welche auf Eisen-Nanopartikel-beladenen Alginaten kultiviert wurden, zeigen eine vermehrte Filopodia-Bildung (d), markiert mit einem Pfeil. Verwendet wurden unbeladene Gele sowie Gele beladen mit Gold-Nanopartikeln (Au) (0,0082 wt%) bzw. Eisen-Nanopartikeln (Fe) (0,0116 wt%). Die Signifikanz ist mit $p < 0,05$ (*) und $p < 0,005$ (***) angegeben. [197]¹⁰⁷ Die Herstellung der Nanopartikel-beladenen Alginatlösungen erfolgte durch M.Sc. Nina Million¹⁰⁸. Die Herstellung der Probenplättchen, die Durchführung der Zelltests sowie deren Auswertung und graphische bzw. bildliche Darstellung erfolgte durch M.Sc. Andreas Blaeser¹⁰⁹.

Die Untersuchung zeigt für alle Proben die Anwesenheit von einzelnen Zellen und Zellpaaren. Zusätzlich dazu werden auf Gold- und Eisen-beladenen Alginaten Zellcluster, bestehend aus mehr als zwei Zellen, vorgefunden. Auf Eisen-beladenen

¹⁰⁷ Nano Research, Laser-based in situ embedding of metal nanoparticles into bioextruded alginate hydrogel tubes enhances human endothelial cell adhesion, 9(11), 2016, 3407-3427, A. Blaeser, N. Million, D. F. Duarte Campos, L. Gamrad, M. Köpf, C. Rehbock, M. Nachev, B. Sures, S. Barcikowski, and H. Fischer, Copyright Tsinghua University Press and Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2016. With permission of Springer. The final publication is available at Springer Nature via <http://dx.doi.org/10.1007/s12274-016-1218-3>.

¹⁰⁸ Technische Chemie I, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Stephan Barcikowski

¹⁰⁹ Universitätsklinikum RWTH Aachen, Zahnärztliche Werkstoffkunde und Biomaterialforschung, Leitung: Univ.-Prof. Dr.-Ing. Horst Fischer

Gelen können die Zellen zudem häufiger und ebenfalls vermehrt verbreitert vorgefunden werden. Zur Beurteilung der Adhäsion und Zellverbreiterung wurde die mit Aktinfilamenten bedeckte Fläche von Einzelzellen bestimmt. Dabei zeigt sich, dass die bedeckte Fläche der Zellen auf Eisen-beladenen Gelen signifikant größer ist als auf den weiteren Materialien (vgl. Abb. 90 a, b). Das Aspektverhältnis der Einzelzellen zeigt eine nahezu runde Morphologie der Zellen auf unbeladenem Alginat, während Zellen auf Eisen-beladenen Gelen eine stark verbreiterte und spindelartige Struktur aufweisen, was in einem signifikant vergrößertem Aspektverhältnis wiederzufinden ist (vgl. Abb. 90 c). Aktinfilamente sind ein wichtiger Bestandteil des Zytoskeletts eukaryotischer Zellen und spielen eine wichtige Rolle bei der Zellmigration, -adhäsion und Formregulation. [292] [293] Die beobachtete signifikant vergrößerte Fläche, die mit Aktinfilamenten bedeckt ist, und das vergrößerte Aspektverhältnis weist auf eine verbesserte Zellverbreiterung und Adhäsion hin. Zudem werden lediglich auf Eisen-beladenen Alginaten HUVECs mit deutlicher Ausbildung von Filopodien festgestellt (vgl. Abb. 90 d), was einen wichtigen Schritt in der frühen Phase der Zelladhäsion darstellt. [294]

Es konnte von verschiedenen Arbeitsgruppen gezeigt werden, dass Nanopartikel die Oberflächenstruktur von Polymeren verändern können [13] [23] und zu einer Erhöhung der Hydrophilie des Polymers führen. Dies begünstigt die Adhäsion von Endothelzellen und deren Proliferation durch eine Proteinadsorption auf der Kompositoberfläche. [13] Es ist bekannt, dass Nanopartikel, die mit fetalem Kälberserum versetzt werden, was zu Zellkulturmedien zugesetzt wird, eine Proteinhülle ausbilden. [295] [296] [297] [298] Der größte Anteil dieser Hülle bildet das Albumin, was ursächlich für eine verbesserte Adhäsion von Endothelzellen ist. [295] [299] Daher ist möglich, dass Nanopartikel die Adhäsion von Endothelzellen auf einer Alginatoberfläche fördern. Wie bereits zuvor in Abbildung 82 und 84 gezeigt, liegen die Nanopartikel einige μm von der Oberfläche des Alginats entfernt, wodurch es zwar möglich wäre, dass sich eine Proteinhülle ausbildet, jedoch kann diese nicht von den Zellen wahrgenommen werden. Die Proteinhüllen können daher nicht für eine verbesserte Zelladhäsion beitragen. Zudem würde sich eine solche Hülle sowohl auf Gold- als auch auf Eisen-Nanopartikeln ausbilden, wobei signifikante Effekte nur für Eisen beobachtet wurden. Eine weitere Möglichkeit zur Verbesserung der Zelladhäsion ist eine Erhöhung der Hydrophilie durch die Nanopartikel von hydrophoben Polymeren, wie TPU. [13] Durch den bereits gezeigten stark hydrophilen

Charakter von Alginat, kann durch die Nanopartikel keine signifikante Änderung der Hydrophilie herbeigeführt werden und daher auch keine verbesserte Adhäsion begründet werden. Ein entscheidender Unterschied zwischen den verwendeten Proben stellen die Nanopartikelmaterialien dar. Die verbesserte Zelladhäsion konnte bei den Eisen-beladenen Proben gezeigt werden. Dieses Material ist relativ unedel und setzt, wie in Abbildung 87 demonstriert, Ionen frei. Das Edelmetall Gold hingegen ist dazu nicht in der Lage. Die Ergebnisse der Freisetzungsexperimente zeigten deutlich eine kontinuierliche Freisetzung von Eisen-Ionen über einen langen Zeitraum (vgl. Abb. 87). Die Ionenaufnahme und der Ionentransport spielt eine wichtige Rolle bei der Zellpolarisation und Zellmigration. [300] Einen besonders wichtigen Anteil am Zellmetabolismus, Fortbestand und Proliferation hat Eisen. [279] [280] Endothelzellen können die Freisetzung von Ionen über Chemotaxis oder Elektrotaxis wahrnehmen und zum Ort mit der höchsten Ionenkonzentration migrieren. Dort haften sie an der Oberfläche direkt über der Ionenquelle, den Eisen-Nanopartikeln. [301] Diese Erkenntnisse können zudem durch Arbeiten von Machida-Sano *et al.* unterstützt werden. [289] [302] Durch die Anwesenheit von Eisenionen im Alginat wurde die Adsorption von Zelladhäsionsproteinen, wie zum Beispiel Fibronectin oder Vitronectin, aus dem Zellkulturmedium auf der Geloberfläche verbessert und dadurch die Zelladhäsion deutlich gefördert. Die Abnahme der Anzahl an adhärenierten Zellen auf dem Eisen-beladenen Gel an Tag 7 kann auf ein mögliches Abwaschen der Zellen beim Wechsel des Zellmediums an Tag 3 zurückgeführt werden.“[197]¹¹⁰

Zusammenfassend konnte in diesem Kapitel gezeigt werden, dass mittels der Laserablation in Alginatlösungen stabile Nanopartikel-beladene Alginat hergestellt werden können. Diese lassen sich zu dreidimensionalen Röhren extrudieren, die als Scaffold zur künstlichen Herstellung von Gefäßen dienen können. Die Nanopartikel liegen dabei teilweise agglomeriert, aber homogen über den gesamten Rohrquerschnitt verteilt vor. Die Nanopartikelintegration zeigt eine Beeinflussung der mechanischen Eigenschaften, wie einem höheren Quellvermögen und einer geringeren Zugfestigkeit der Nanopartikel-beladenen Gele, durch die Veränderung der Gelnetzwerkstruktur. Die Hydrophilie der Gele bleibt unbeeinflusst. Das so hergestellte

¹¹⁰ Nano Research, Laser-based in situ embedding of metal nanoparticles into bioextruded alginate hydrogel tubes enhances human endothelial cell adhesion, 9(11), 2016, 3407-3427, A. Blaesser, N. Million, D. F. Duarte Campos, L. Gamrad, M. Köpf, C. Rehbock, M. Nachev, B. Sures, S. Barcikowski, and H. Fischer, Copyright Tsinghua University Press and Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2016. With permission of Springer. The final publication is available at Springer Nature via <http://dx.doi.org/10.1007/s12274-016-1218-3>.

System ist hoch biokompatibel. Eisen-Nanopartikel-beladene Gele fördern die Zelladhäsion, zeigen eine höhere Viabilität der Zellen und erhöhte Expression von Aktinfilamenten, was auf die Freisetzung von Eisenionen zurückgeführt wird, welche in dieser Studie ebenfalls gezeigt wurde. Das so hergestellte System stellt die Basis für die Herstellung von Scaffolds für die Zellzüchtung dar und kann auf verschiedene Geometrien übertragen werden, um verschiedene Anwendungsbereiche abzudecken.

6.6.2.2 Stammzelldifferenzierung zur Gewebegeneration

Polymergerüste, welche durch eine Nanopartikelbeladung Ionen freisetzen, könnten neben den bisher gezeigten Anwendungen potenziell auch zur Beeinflussung der Stammzelldifferenzierung zur Bildung verschiedenster Gewebearten des menschlichen Körpers genutzt werden. Die Entwicklung eines solchen Gerüsts sowie die Charakterisierung und erste biologische Testungen werden in diesem Kapitel dargestellt.

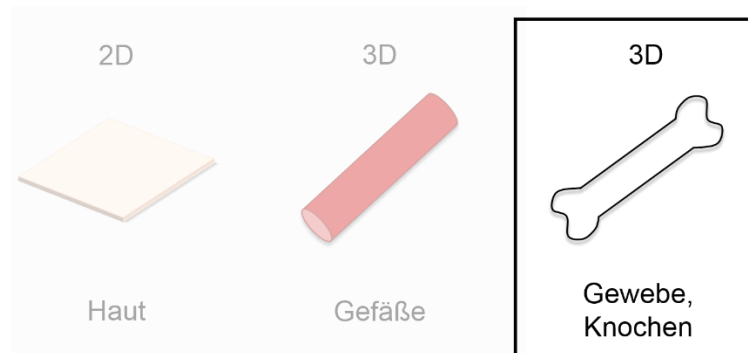


Abbildung 91: Skizze des höheren Studienziels. Durch die Herstellung eines Gerüsts soll die Differenzierung von Stammzellen beeinflusst werden, um dreidimensionale Gewebe erzeugen zu können.

Stammzellen stellen einen der wichtigsten Zelltypen im menschlichen Körper dar. Es sind Zellen, die erst eine Funktion annehmen und sich zu einer bestimmten Zelllinie differenzieren müssen. [303] [304] Sie werden allgemein unterschieden in pluripotente, z.B. embryonale, und multipotente, z.B. hämatopoetische, Stammzellen. [304] Die Differenzierung von Stammzellen wird maßgeblich durch die umgebende Matrix bestimmt. Hier soll der Fokus auf die hämatopoetischen Stammzellen, also Blutstammzellen, gelegt werden, aus denen unter anderem Erythrozyten entstehen. [303] [305] Diese Zellen sind hauptverantwortlich für den Sauerstoff- und Kohlenstoffdioxidtransport im Körper und daher lebensnotwendig. [306] Verantwortlich für den Sauerstofftransport ist das während der Reifung im Erythrozyten gebildete Hämoglobin. Zur Bildung von Hämoglobin spielen Eisenionen, welche im Hämoglobin als Zentralatom gebunden sind, eine essentielle Rolle. [307] Daher wird in diesem Kapitel der Einfluss von Eisenionen, freigesetzt aus Eisen-Nanopartikel-beladenen Polyethylenglykol diacrylat (PEG-DA)-Gelen, auf die Erythrozyten-differenzierung untersucht. Dabei sollen Gold-Nanopartikel-beladene Gele als Kontrollsystem dienen.

Zunächst erfolgte eine Charakterisierung der Partikelgröße der lasergenerierten Gold- und Eisen-Nanopartikel in der PEG-DA-Lösung.

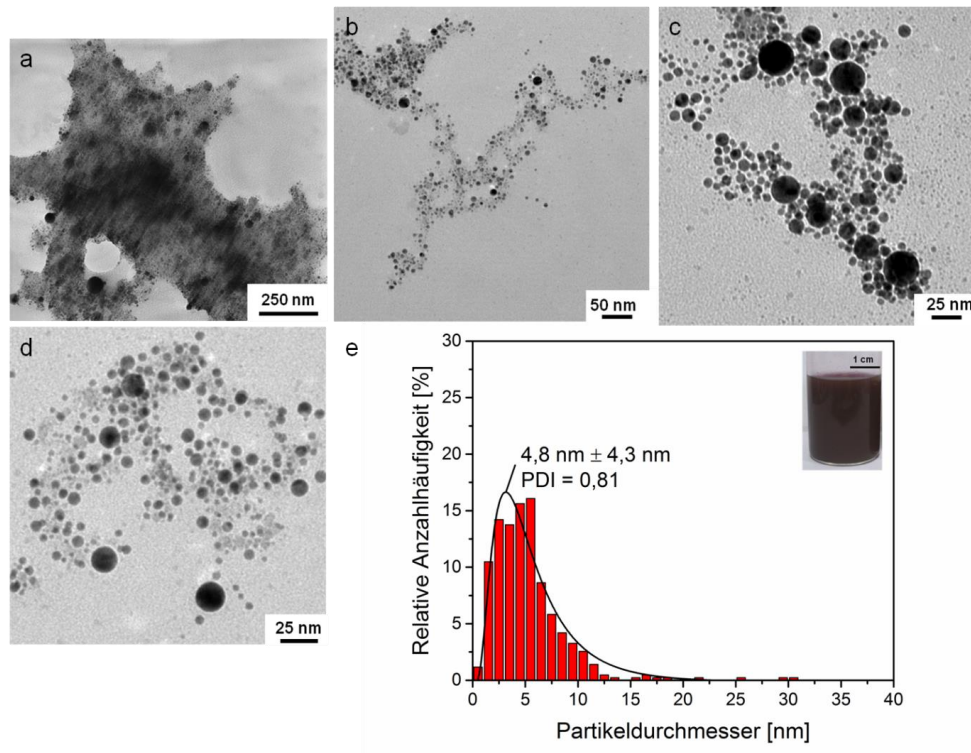


Abbildung 92: Transmissionselektronenmikroskopbilder einer Gold-Nanopartikel-beladenen (0,51 wt%) PEG-DA-Lösung (0,143 mol/l) (a-d). Histogramm erstellt aus TEM-Aufnahmen, 429 ausgezählte Partikel (e).

In Abbildung 92 deutlich zu erkennen sind sphärische Gold-Nanopartikel mit einem mittleren Partikeldurchmesser von $4,8 \text{ nm} \pm 4,3 \text{ nm}$, angeordnet in Agglomeraten. Gut erkennbar ist ein Interpartikelabstand zwischen den Nanopartikeln, was auf eine Umhüllung der Partikel mit Polymer hinweist, wodurch eine Bildung von Aggregaten verhindert wird. Die geringe Partikelgröße und Abwesenheit von Aggregaten wird dabei durch die sterische Stabilisierung verursacht, die über den Abtrag in Anwesenheit des Polymers erfolgt. [19]

Auch für Eisen-Nanopartikel werden Agglomerate mittels TEM-Messungen festgestellt. Dabei sei jedoch anzumerken, dass neben kleinen sphärischen Partikeln die Eisen-Nanopartikel in Stäbchenform vorliegen (vgl. Abb. 93). Aufgrund der dichten Ansammlung der Partikel, war eine genaue Ausmessung einer ausreichenden Partikelanzahl, um ein verlässliches Histogramm zu erstellen, nicht möglich.

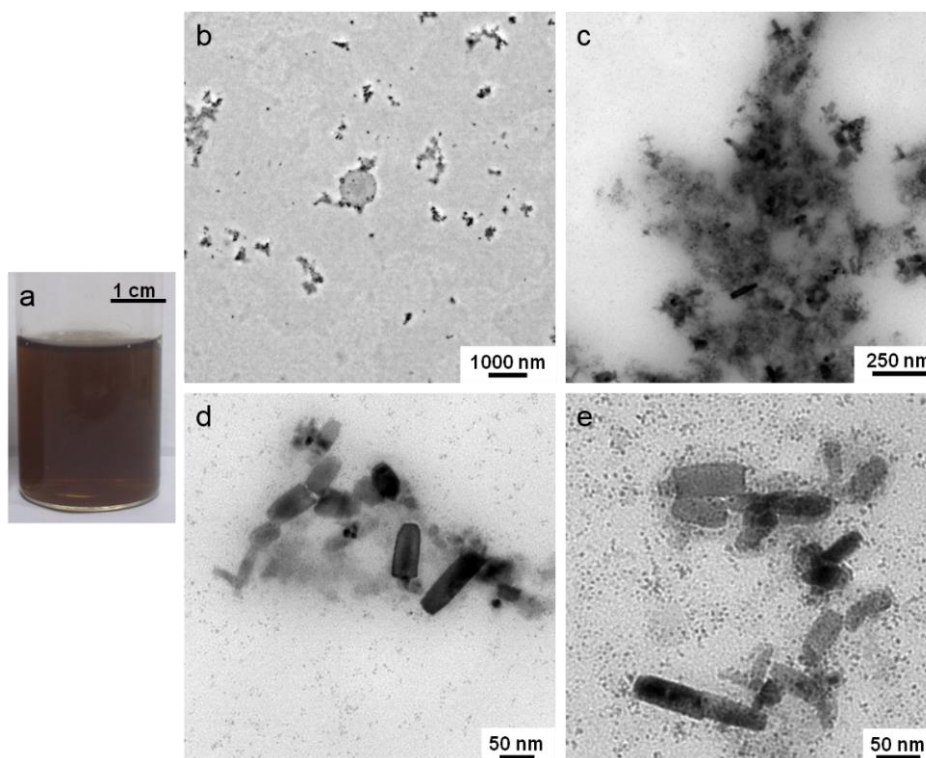


Abbildung 93: Eisen-Nanopartikel-beladene (0,06 wt%) PEG-DA-Lösung (0,357 mol/l) (a), Transmissionselektronenmikroskopbilder einer Eisen-Nanopartikel-beladenen PEG-DA-Lösung (b-e).

Die Stäbchenform von Nanoeisen wurde bereits von Bao *et al.* für $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ -Strukturen, hergestellt durch thermische Zersetzung von Eisen Oleat, nachgewiesen. [308] Jedoch fanden Lin *et al.* ebenfalls eine Stäbchenform für elementares Eisen ($\alpha\text{-Fe}$), hergestellt durch Reduktion von Akaganeit ($\beta\text{-FeOOH}$), vor. [309] Über die Laserablation konnten in früheren Studien sphärische Eisenoxid-Nanopartikel in Wasser [310] [311] bzw. in wässriger PVP-Lösung [312] hergestellt werden. Auch weitere Arbeitsgruppen, die Eisen-Nanopartikel über den Laserabtrag in verschiedenen Flüssigkeiten (z.B. Ethanol, THF u.a.) herstellten, beobachteten stets sphärische Nanopartikel, unabhängig vom Oxidationszustand. [313] Aufgrund der variierenden Literaturangaben, kann hier lediglich aufgrund von TEM-Aufnahmen keine Aufklärung der Eisenstruktur erfolgen. Dazu wären weitere Analyse, z.B. durch XRD oder XPS, nötig.

Aus diesen Nanopartikel-beladenen PEG-DA-Lösungen (vgl. Abb. 94 a) wurden Gelplättchen mit unterschiedlichen Beladungen an Nanopartikeln hergestellt (vgl. Abb. 94 b und c).

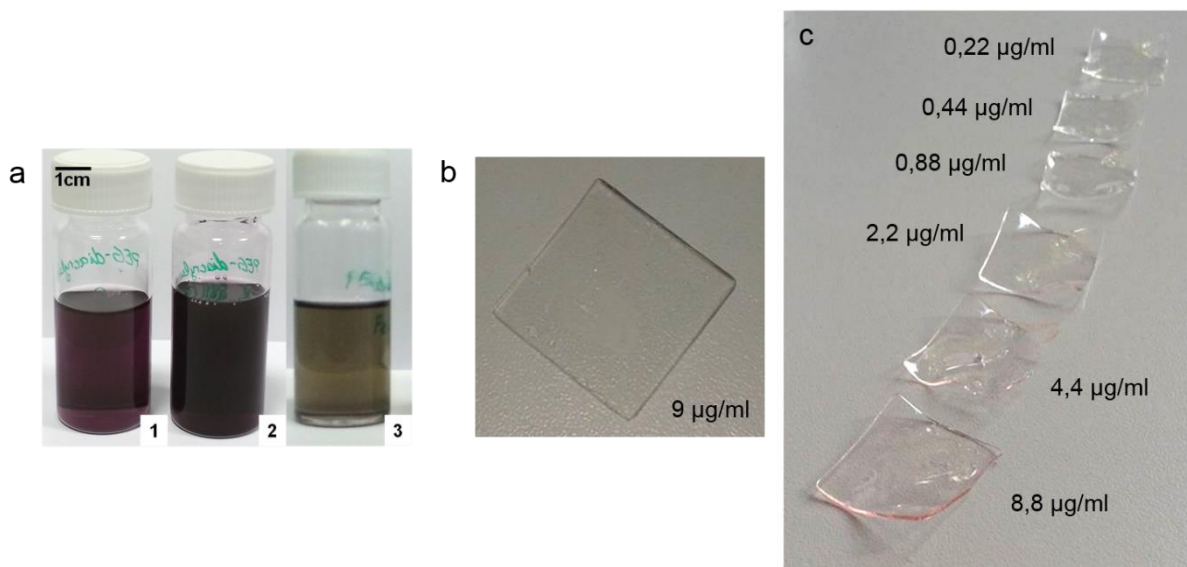


Abbildung 94: PEG-DA-Lösungen (1,43 mol/l) mit unterschiedlichen Nanopartikelbeladungen (a1 = Au 44 µg/ml; a2 = Au 83 µg/ml; a3 = Fe 9 µg/ml). Aus den Lösungen hergestellte PEG-DA-Plättchen mit Eisen-Nanopartikeln (b) und Gold-Nanopartikeln (c) unterschiedlicher Konzentration. Die Größe jedes Plättchens beträgt ca. 18x18 mm. Die Herstellung der Plättchen wurde von Dipl. Biol. Katharina Brändle¹¹¹ durchgeführt.

Um die Verteilung der Nanopartikel nach der Weiterverarbeitung zu beurteilen, wurde die Konfokalmikroskopie angewendet. Zunächst zeigt Abbildung 95 Übersichtsaufnahmen einer Ebene der Gelplättchen mit Eisen-Nanopartikeln (vgl. Abb. 95 b). Als Referenz sind ebenfalls Aufnahmen eines reinen PEG-DA-Gelplättchens dargestellt (vgl. Abb. 95 a).

¹¹¹ Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Institut für funktionelle Grenzflächen (IFG), Arbeitsgruppe Stammzell-Material-Wechselwirkungen, Leitung: Dr. Cornelia Lee-Thedieck

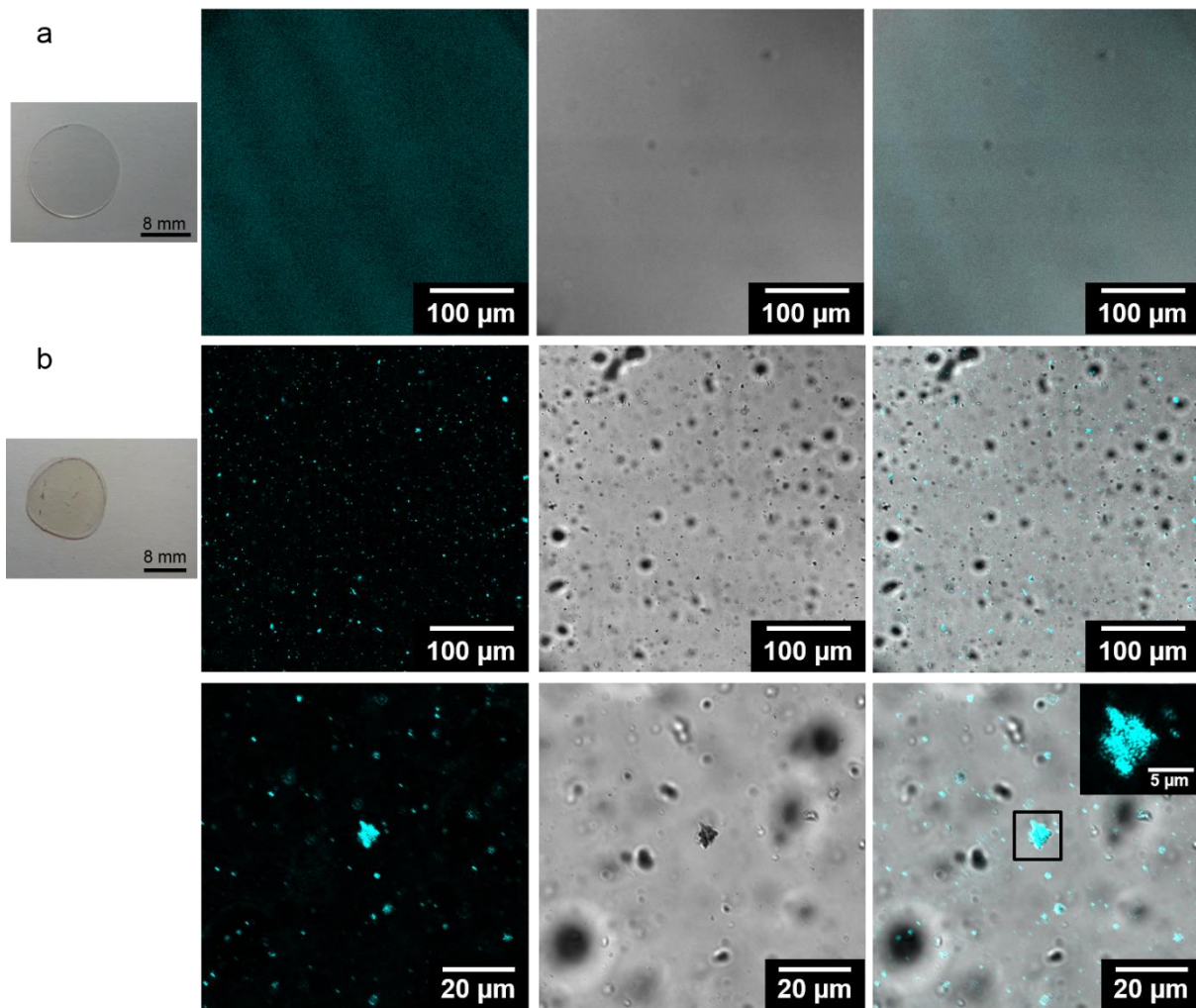


Abbildung 95: Konfokalmikroskopbilder von unbeladenen (a), bzw. mit Eisen-Nanopartikeln- (0,012 wt%) beladenen (b) PEG-DA/PEG-MA-Gelplättchen in einer Ebene des Plättchens. Die erste Spalte zeigt ein Bild der Plättchen, die zweite Spalte die Detektion von Nanopartikeln, die dritte Spalte zeigt die Kontrastaufnahme der Matrix und die vierte Spalte ist eine Überlagerung der zweiten und dritten.

Durch die Aufnahmen des unbeladenen PEG-DA-Plättchens, in dem keinerlei positive Signale erkennbar sind, können die erhaltenen Signale für das Eisen-Nanopartikel-beladene Plättchen eindeutig Nanopartikeln zugeordnet werden. Wie bereits zuvor durch TEM-Aufnahmen gezeigt, liegen auch nach der Plättchenherstellung die Eisen-Nanopartikel in Agglomeraten vor. Die Vergrößerung eines dieser Agglomerate von etwa 5 µm zeigt, dass dieses aus kleineren Agglomeraten von etwa 225 nm besteht, die voneinander durch einen Interpartikelabstand differenziert werden können. Dies bestätigt die Abschirmung der Partikel durch die Polymermatrix. Wie bereits bei den Nanopartikel-beladenen Alginate-Röhren beschrieben, können Einzelpartikel, die die optische Auflösung des Mikroskops von 60 nm unterschreiten, nur als Punkte dargestellt werden, die je nach enthaltener Partikelanzahl in der Signalintensität variieren. [192] [288] Aufgrund dieser Auflösungsgrenze und der Ansammlung als

Agglomerate ist zudem hier nicht mehr erkennbar, ob die zuvor beobachtete Stäbchenform der Nanopartikel auch weiterhin vorliegt.

Durch einen Totalscan des Plättchens konnte gezeigt werden, dass die Nanopartikel homogen in der gesamten Matrix verteilt sind (vgl. Abb. 96 a).

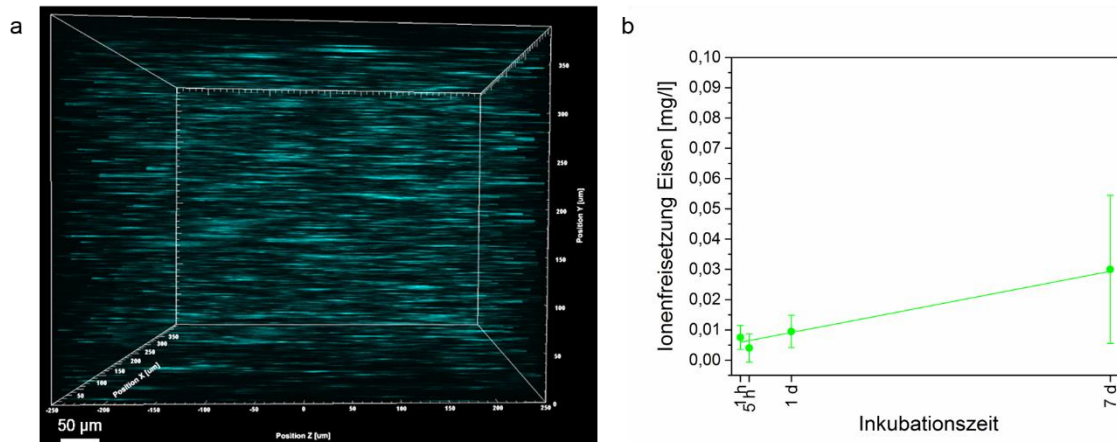


Abbildung 96: Konfokalmikroskopbild von PEG-DA/PEG-MA-Gelplättchen beladen mit Eisen-Nanopartikeln (0,012 wt%). Die Aufnahme zeigt die Nanopartikelverteilung in einem Totalscan (Schrittweite 1 µm) des Plättchens (a). Freisetzung von Eisenionen aus PEG-DA-Gelplättchen beladen mit Eisen-Nanopartikeln (0,012 wt%) (b). Die Durchführung und Auswertung der Ionenfreisetzungstests erfolgte durch Dipl. Biol. Katharina Brändle und Marita Heinle¹¹².

Die Möglichkeit einer Ionenfreisetzung von Eisen ist durch die homogene Verteilung aus dem gesamten Gel gewährleistet. Die tatsächliche Ionenfreisetzung wurde über sieben Tage im Zellkulturmedium getestet und mittels ICP-OES analysiert. Abbildung 96 b zeigt eine kontinuierliche Freisetzung an Eisenionen über den gesamten Inkubationszeitraum. Da es sich hierbei um ein Experiment handelt, welches lediglich mit einer Zweifachbestimmung durchgeführt wurde, sollten in der Zukunft weitere Untersuchungen durchgeführt werden, um dieses Ergebnis zu bestätigen.

Es konnte bisher gezeigt werden, dass es möglich ist homogen verteilte Nanopartikel in einer PEG-DA-Matrix herzustellen, welche dann zu Gelplättchen verarbeitet werden können und Eisenionen freisetzen. Dieses Material soll nun hinsichtlich seiner Wirkung auf die Zelldifferenzierung von hämatopoetischen Stammzellen zu Erythrozyten untersucht werden.

¹¹² Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Institut für funktionelle Grenzflächen (IFG), Arbeitsgruppe Stammzell-Material-Wechselwirkungen, Leitung: Dr. Cornelia Lee-Thedieck

Für das Verständnis der nachfolgenden Zelltestungen werden anhand von Abbildung 97 die verwendeten Begriffe erläutert.

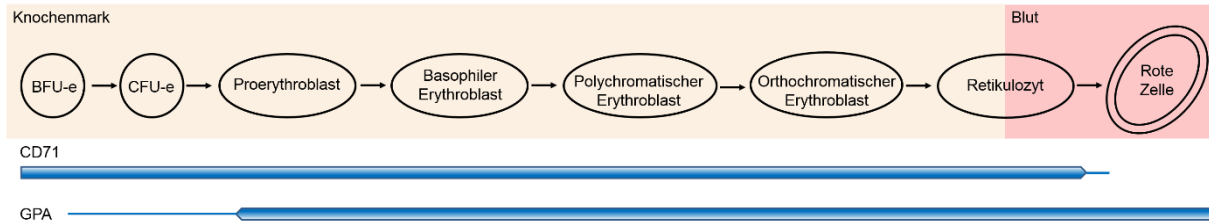


Abbildung 97: Differenzierungsschritte von der Stammzelle bis zum Erythrozyten sowie die Rezeptoren zum Nachweis des Differenzierungsstadiums (CD71 und GPA). (BFU-e = burst-forming unit erythroid, CFU-e = colony-forming unit erythroid). Erstellt nach [306].¹¹³

Aus den hämatopoetischen Stammzellen entwickeln sich zunächst verschiedene Stadien von Erythroblasten, woraus Retikulozyten entstehen, die sich letztendlich zu den roten Blutkörperchen ausdifferenzieren. GPA (auch CD235 genannt) und CD71 sind dabei Oberflächenmarker, die es ermöglichen das Stadium der Entwicklung nachzuvollziehen. Im frühen Stadium kann lediglich CD71 detektiert werden. In den verschiedenen Erythroblastenstadien sind sowohl CD71 als auch GPA messbar. Wird nur noch GPA detektiert, so sind die Erythrozyten ausgereift. [306]

Der Einfluss einer Eisenionenzugabe über Nanopartikel-beladene PEG-DA-Gele oder Eisennitrat wird in Abbildung 98 dargestellt.

¹¹³ Adapted by permission from Macmillan Publishers Ltd: Nature Reviews Cancer. J. L. Spivak. The anaemia of cancer: death by a thousand cuts. Nature Reviews Cancer, 5(7):543-555, 2005, copyright (2005). <http://dx.doi.org/10.1038/nrc1648>.

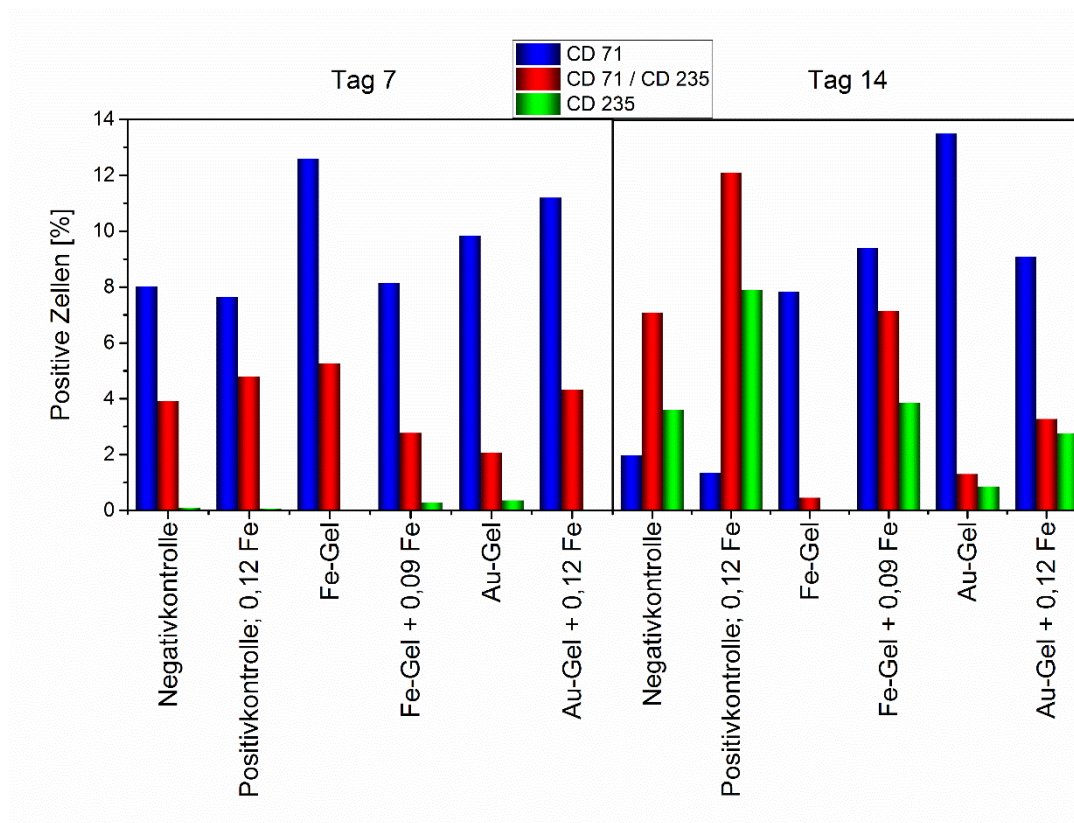


Abbildung 98: Erythrozytendifferenzierung innerhalb von 7 und 14 Tagen unter dem Einfluss von Eisen- (0,012 wt%) oder Gold-Nanopartikel- (0,0052 wt%) beladenen PEG-DA/PEG-MA-Gelen mit und ohne den Zusatz von Eisennitrat (Angaben an der x-Achse in $\mu\text{g/ml}$). Detektion der Oberflächenmarker CD71 und CD235. Die Durchführung und Auswertung der Zelltestungen wurde von Dipl. Biol. Katharina Brändle¹¹⁴ durchgeführt.

Nach 7 Tagen ist zu erkennen, dass bei der Verwendung eines Eisen-beladenen Gels die meisten Zellen im frühen Stadium der erythroiden Differenzierung, jedoch keine ausgereiften Erythrozyten, vorlagen. Eine Zugabe von zusätzlichen 0,09 $\mu\text{g/ml}$ Eisennitrat zum Gel mit Eisen-Nanopartikeln führte nach 14 Tagen zur Erhöhung der CD235-Werte, also zu einer beschleunigten Differenzierung. Für Gele beladen mit Gold-Nanopartikeln hingegen wurden nach der Zugabe von Eisennitrat keine Erythrozyten festgestellt (Tag 7), im Gegensatz zum reinen Gold-PEG-DA-Gel. Nach 14 Tagen wird deutlich, dass die frühe Differenzierung durch Eisen beschleunigt wurde, die Zellen jedoch in diesem Stadium stagnierten und sich nicht zu Erythrozyten entwickelten. Dieses Verhalten ist sowohl für Gold- als auch für Eisen-Nanopartikel-beladene Gele zu beobachten.

Kawasaki *et al.* belegten in ihrer Studie, dass die Entwicklung von Hämoglobin durch die Zugabe von Eisen beschleunigt wird. [307] Da Hämoglobinbildung ein essentieller

¹¹⁴ Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Institut für funktionelle Grenzflächen (IFG), Arbeitsgruppe Stammzell-Material-Wechselwirkungen, Leitung: Dr. Cornelia Lee-Thedieck

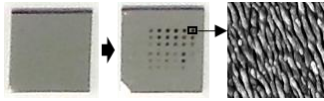
Schritt der Erythrozytenentwicklung ist, beschleunigt eine zusätzliche Eisenzugabe auch die Differenzierung, was in den hier gezeigten Ergebnissen ebenfalls beobachtet werden kann. Differenzierungsexperimente von Taoka *et al.* zeigten hingegen, dass humane CD34⁺ Zellen bei einer erhöhten Eisenionen-Zugabe in ihrer Differenzierung gehemmt werden. [314] Oberhalb einer Konzentration von 50 µM Eisenionen reduzierte sich bereits die Bildung von BFU-e in Abhängigkeit von der Konzentration. Zudem wurde bei einer Überdosierung von Eisen ein erhöhter Anteil von unausgereiften Erythroblasten im Vergleich zu Versuchen mit einer optimalen Eisendosierung festgestellt. Das überschüssige Eisen konnte innerhalb der Zelle akkumuliert vorgefunden werden, wo es eine zu einer erhöhten oxidativen Belastung führt und letztendlich zum vermehrten Zelltod führte. [314] Der oben genannte Richtwert von 50 µM freiem Eisen wird in den in dieser Arbeit gezeigten Experimenten mit Konzentrationen von maximal 2,15 µM weit unterschritten. Ähnlich Dosierungen wurden auch von Byrnes *et al.* bei der Kultivierung von CD34⁺ Zellen verwendet. [315] Daher ist es verständlich, dass kein vermehrtes Zellsterben, sondern lediglich eine stagnierende Differenzierung der Zellen beobachtet werden konnte. Da es sich auch hier um Einzeldurchführungen handelt, müssen zukünftige Wiederholungsexperimente durchgeführt werden, um die vorliegenden Ergebnisse abzusichern.

7. Zusammenfassung

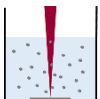
Die Wundheilung beim Menschen, insbesondere die Heilung von Brandwunden, ist ein komplexer Prozess, der je nach Schweregrad einer intensiven ärztlichen Versorgung bedarf. Schwere Brandverletzungen betreffen jährlich fast 2000 Menschen in Deutschland. Während der Versorgung der Wunden mit Verbänden ist der Verbandswechsel mehrmals täglich ein belastender und schmerzhafter Vorgang für den Patienten, der auch das Risiko einer Infektion und damit das Sterberisiko erhöht. Bei einer Verletzung herrscht in der Wunde ein gestörter Ionenhaushalt, wodurch essentielle Ionen, wie Zink und Kupfer, zur Zellregeneration nicht zur Verfügung stehen. Eine Unterstützung der Wundheilung könnte daher durch eine Behandlung mit Verbandsmaterialien stattfinden, welche über einen langen Zeitraum kontinuierlich Metallionen, die zur Zellregeneration benötigt werden, in die Wunde freisetzen. Bisherige Materialien, z.B. Zinksalben, stellen dabei lediglich ein Element zur Verfügung, während jedoch in der Wunde multiple Metallionen gebraucht werden. Die Entwicklung eines solchen Materials, welches in der Lage ist auch mehrere Ionenspezies über einen längeren Zeitraum freizusetzen, stellte einen zentralen Aspekt dieser Arbeit dar. Zudem steht Eisen als Element im Hinblick auf eine verbesserte Endothelialisierung im Fokus.

Als bioaktiver Wirkstoff, der die Ionen freisetzt, fungierten lasergenerierte Nanopartikel, die aufgrund ihres großen Oberflächen-zu-Volumen Verhältnisses sehr gut zur Freisetzung von Ionen mit einer belegten guten Freisetzungsrates geeignet sind. Die Trägermatrix für diese Wirkstoffe stellten Copolymere und Hydrogele dar. Durch die *In-situ*-Herstellung der Nanopartikel in der Polymermatrix über die Laserablation in der Monomerlösung mit gleichzeitiger Polymerisation sowie in wässriger Hydrogel-Lösung wurde zum einen der Vorteil genutzt, dass keine Vorläufersubstanzen oder Stabilisierungsreagenzien benötigt wurden. Zum anderen erfolgte die Synthese auf rein wässriger Basis. Durch diese beiden Aspekte wurden medizinisch bedenkliche toxische Effekte durch Lösungsmittel oder deren laserinduzierten Degradationsprodukte ausgeschlossen. Für eine Prozessoptimierung erfolgte eine Untersuchung des Laserprozesses in Hinblick auf mögliche Einflussparameter auf die Nanopartikelproduktivität, um einen möglichst großen Konzentrationsbereich für die spätere medizinische Anwendung erzeugen zu können. Um den dazu verwendeten

Laserprozess besser zu verstehen wurde zuvor die Interaktion zwischen Laserstrahl und Materialoberfläche näher betrachtet.

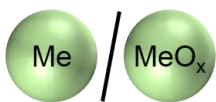


Neben der Generierung von Nanopartikeln durch den Laserabtrag von Metallen kann der Laser auch zur Oberflächenmodifikation von Metallen genutzt werden. Diese Prozessmöglichkeit wurde in dieser Arbeit als Exkurs durchgeführt und zeigte die Bildung von laserinduzierten periodischen Oberflächenstrukturen (LIPSS) auf glatten Titanoberflächen unter der Verwendung von ps-Pulsen und in Abhängigkeit vom umgebenden Medium (Luft, Wasser, Methanol, Tetrahydrofuran). Dabei konnten sowohl LFSL (engl.: low-spatial frequency LIPSS), senkrecht zur Polarisation der Laserstrahlung, als auch HSFL (engl.: high-spatial frequency LIPSS), parallel zur Polarisation, in allen Medien erzeugt werden. Dabei wurde zum ersten Mal der Einfluss des Brechungsindex des Mediums auf die Periodizität der LIPSS gezeigt. Die Periodizität der LSFL zeigte dabei eine Abhängigkeit von der effektiven Anzahl an Pulsen und dem Brechungsindex mit Perioden zwischen 400 nm-900 nm. Die LSFL-Perioden folgten quantitativ dem Interferenzmodell, zeigten qualitativ aber deutlich kleinere Werte. Die HSFL schienen keine Abhängigkeiten zu zeigen und wiesen Perioden von 80 nm-150 nm auf. In dieser Arbeit konnte damit gezeigt werden, dass auch mit ps-Lasern, hohen Repetitionsraten und einem schnellen Scansystem in unterschiedlichen Medien homogene LIPSS erzeugt werden können, wobei die Wahl des Lösungsmittels einen großen Einfluss auf die erhaltenen LIPSS hat.



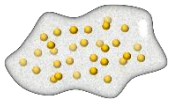
Nach der Betrachtung der Laser-Material-Wechselwirkung wurde der Einfluss verschiedener Parameter auf die Produktivität des Laserabtrags untersucht. Theoretische Berechnungen der auftretenden Effekte beim Übergang des Laserstrahls von Luft in eine Flüssigkeit und deren Vergleich mit den experimentell erhaltenen Werten zeigten dabei, dass eine Fokusverschiebung in der Flüssigkeit hauptsächlich linearer Optik (Brechung) und nur marginal nicht-linearen Effekten (Selbstfokussierung) zugesprochen werden konnten. Durch die Verwendung einer Brennweite von 63 mm im Vergleich zu einer Brennweite von 100 mm sollte nach theoretischen Betrachtungen die Fluenz auf der Targetoberfläche erhöht und damit die Produktivität gesteigert werden. Nach der Untersuchung und Optimierung der

Fokusposition, Repetitionsrate, Abtragsdauer und Scangeometrie in Wasser konnte jedoch eine verbesserte Produktivität durch die kürzere Brennweite nicht erhalten werden. Die maximal erreichbaren Produktivitäten (Targetmaterial Gold) lagen bei $17,2 \mu\text{g/s}$ ($f = 63 \text{ mm}$, $LL = 3,5 \text{ mm}$, $RR = 50 \text{ kHz}$, $d_s = 5 \text{ mm}$) und $17,8 \mu\text{g/s}$ ($f = 100,1 \text{ mm}$, $LL = 3,0 \text{ mm}$, $RR = 100 \text{ kHz}$, $d_s = 6 \text{ mm}$). Eine konstante, reproduzierbare Produktivität konnte ab einer Abtragsdauer von mindestens 4 min bestätigt werden. Die Verwendung des Monomersystems *N*-Vinylcaprolactam/2-(Methacryloyloxy)ethyl-acetoacetat (VCL/AAEM) als Fluid erzeugte zusätzlich eine Monomerkonzentrations-abhängige Trübung der Lösung durch die Polymerisation während des Laserabtrags. Dies führte zu einer drastischen Reduzierung der Pulsleistung, die zum Target gelangte, und damit zu einer Abnahme der Produktivität. Um diese Trübung zu umgehen, wurden verschiedene Varianten der Abtragskammer untersucht: Batch-Kammer (bei 80°C und Raumtemperatur), Fed-Batch-Betrieb, Durchflussskammer und beheizte Durchflussskammer. Da der Abtrag in der Kälte jedoch nicht zu stabilen Nanopartikeln in der Polymermatrix führten und keine der genannten Abtragskammern eine Verbesserung der Produktivität bewirkten, wurde die Batch-Kammer bei 80°C für alle Experimente, in denen Polymersysteme hergestellt wurden, verwendet.

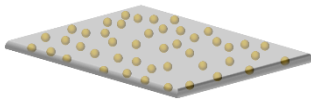


Es ist bekannt, dass die Ionenfreisetzung aus Nanopartikeln aufgrund von Korrosionsprozessen stattfindet. Elementare, metallische Partikel weisen ein größeres Potential zur Oxidation auf als bereits oxidierte. Daher lag ein Bestreben darin, den Oxidationsgrad der Nanopartikel durch Variation der Sauerstoffkonzentration des Fluids zu kontrollieren. Nachdem sich die Einstellung der Sauerstoffkonzentration in Wasser durch die Methode der Argonanreicherung im Vergleich mit einem Entgasungssystem mit einer minimal erreichbaren Konzentration von $0,4 \text{ mg/l}$ als effektiver erwies, wurden Kupfer- und Titan-Nanopartikel bei unterschiedlichen Sauerstoffkonzentrationen hergestellt. Die Analysen mittels UV/VIS-Spektroskopie mit Bandlücken-Berechnung, TEM-Aufnahmen, Zeta-Potential-, DLS-, XRD- und XPS-Messungen zeigten, dass Cu, CuO und Cu₂O in zunehmenden relativen Anteilen in allen Proben enthalten waren. Unter Verwendung von Titan als Targetmaterial wurden ausschließlich Titanoxide, nämlich Rutil (TiO₂) sowie Suboxide in Form von Ti³⁺ und Ti²⁺ (in abnehmenden relativen Anteilen), hergestellt, was sich auch durch die blaue Färbung der Proben zeigte. Die Laserablation in Wasser erzeugt

immer oxidative Spezies durch die Zersetzung von Wasser, auch wenn dieses vollkommen sauerstofffrei ist. Dies führt daher stets zur Oxidation der Nanopartikel auch in entgastem Wasser. Aufgrund dieser Ergebnisse wurde für die Synthese der Komposite auf normales, bidestilliertes Wasser zurückgegriffen.

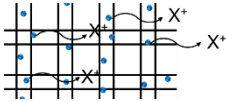


Als Trägerpolymere für die hergestellten Nanopartikel wurden zwei unterschiedliche Copolymerverbindungen verwendet. Das bereits erwähnte PVCL/AAEM-Copolymer bildete Mikrogele, bestehend aus einer AAEM-Kern- und VCL-Hülle-Struktur. Über TEM-Aufnahmen konnte innerhalb dieser Mikrogele die vollständige Einkapselung der Nanopartikel nachgewiesen werden, welche nach TG-Analysen bis zu einer Zersetzungstemperatur des Polymers von 300 °C gewährleistet war. Dies ermöglicht zudem die spätere Sterilisierung des Materials über zum Beispiel thermische Prozesse für medizinische Anwendungen ohne eine Veränderung des Materials zu verursachen. *In-vitro*-Testungen (in Kooperation mit der Medizinischen Hochschule Hannover) von Eluaten aus Mikrogele (unbeladen oder beladen mit Eisen- bzw. Zink-Nanopartikeln) zeigten auf die Fibroblasten-Zelllinie L929 für Konzentrationen im Bereich von 4-4.000 µg/ml keinen zytotoxischen Effekt, ab einer Konzentration von 400 µg/ml jedoch eine Verbesserung der Zellproliferation. Diese gute Biokompatibilität wurde auch durch die Verarbeitung mittels Elektrosponnen nur leicht verändert. So wurde die Verbesserung der Zellproliferation erst ab einer Konzentration von 1.000 µg/ml erreicht. Bei äquivalenten Experimenten, unter der Verwendung von humanen dermalen Fibroblasten (hd-FB) und humanen Keratinozyten (h-KC), zeigte lediglich eine Mikrogel-Eluatkonzentration von 4.000 µg/ml aus Zink-beladenen Mikrogele eine leichte toxische Reaktion. Dabei fiel diese auf Keratinozyten mit einem LDH-Wert von 65 % stärker aus als auf Fibroblasten mit einem LDH-Wert von 29 %, woraus bei dieser Konzentration ein Verlust der Proliferationseigenschaften resultierte. Für unbeladene Gele und Eisen-beladene Gele stieg die Proliferation beider Zelltypen ab einer Konzentration von 400 µg/ml an. Über sogenannte Scratch-Testungen wurde die Migration von Zellen (hd-FB und h-KC) beurteilt, wobei hd-FB eine Reduzierung, h-KC eine Verbesserung der Zellmigration durch Nanopartikel-beladene Mikrogele aufwiesen. Damit stellen die hergestellten Mikrogele eine gute Trägermatrix für Nanopartikel als Ionenfreisetzungsdot dar, die auch auf Zellen ihre Unbedenklichkeit bewiesen und somit für die medizinische Anwendung geeignet sind.



Da das PVCL/AAEM-Mikrogelsystem jedoch zu der zuvor beschriebenen starken Trübung beim Laserabtrag führte, wurde als zweites System ein Copolymer aus *N*-Vinylcaprolactam und Poly(ethylenglykol) methacrylat (VCL/PEG-MA) mit einer wesentlich geringeren optischen Dichte hergestellt. Die hinzugefügte Konzentration an PEG-MA beeinflusste die Nanopartikel-Morphologie von Zinkoxid von einer Stäbchenform (PEG-MA Konzentration 1,25 mol% bis 3 mol%) bis hin zu sphärischen Nanopartikeln (PEG-MA-Konzentration 5 mol%). Die so über TEM-Aufnahmen bestimmte Bildung von ZnO-Nanopartikeln konnte durch die Messung der Röntgenbeugung bestätigt werden. Beim Abtrag von Eisen wurden so auch kubisches, elementares Eisen sowie kubisches Fe_3O_4 und, im Falle von Kupfer, monoklines Kupfer(II)-oxid (CuO) und kubisches Kupfer(I)-oxid (Cu_2O) nachgewiesen. Im Unterschied zum PVCL/AAEM-Mikrogel wurde für dieses System die Formulierung „Copolymer“ verwendet, da über Cryo-TEM-Analysen und DLS-Messungen bei unterschiedlichen Temperaturen nicht eindeutig das Verhalten eines Mikrogels beobachtet werden konnte. Daher wurde vermutet, dass es sich um die Bildung eines Polymerfilms handelte, der die Nanopartikel immobilisierte. Mit diesem Polymersystem wurden zu der Einbettung von einzelnen Nanopartikelementen zudem Multielement-Komposite hergestellt. Durch den sukzessiven Abtrag verschiedener Elemente in einer Polymerlösung entstanden so Copolymere, die mehrere Nanopartikel-Materialien enthielten.

Für die Produktion von Wundaufgaben aus den so hergestellten Nanopartikel-beladenen Copolymeren aus PVCL/PEG-MA wurde die Methode des Elektrosplinnens verwendet. Dabei wurden erfolgreich Fasern gesponnen, auf deren Oberfläche das Copolymer immobilisiert war. Die Nanopartikel befanden sich auch nach dieser Weiterverarbeitung innerhalb des Copolymers. Im Falle der Multielement-Komposite waren die enthaltenen Elemente homogen über die gesamten Fasern verteilt. Damit stellt diese Weiterverarbeitung eine optimale Methode dar, um die Nanopartikel-beladenen Polymere fest zu immobilisieren und somit eine unbedenkliche Darreichungsform im medizinischen Bereich zu haben.



Nachdem eine Unbedenklichkeit des Elektrosplennens (in Kooperation mit der RWTH Aachen) auf Aluminiumfolie hinsichtlich der Freisetzungsexperimente nachgewiesen wurde, wurden die hergestellten Fasern hinsichtlich ihres Freisetungsverhaltens untersucht. Alle Systeme zeigten eine kontinuierliche Freisetzung von Ionen über einen Zeitraum von 105 h mit einem initialen Burst-Release innerhalb der ersten 10 h. Die prozentuale Ionenfreisetzung konnte dabei durch die Beladung des Polymers mit Nanopartikeln gesteuert werden, wobei galt, dass mit zunehmender Beladung die prozentuale Freisetzung abnahm. Abhängig von der Beladung war auch die Einstellung der freigesetzten Ionenkonzentration möglich. Wurden mehrere Elemente in einem Copolymer verarbeitet (Cu und Fe, Cu und Zn, Fe und Zn sowie Cu und Fe und Zn), so zeigte sich eine Beeinflussung der Freisetzung nach der elektrochemischen Spannungsreihe. Das edlere Element (edler Charakter $\text{Cu} > \text{Fe} > \text{Zn}$) wurde vermindert, das unedlere Element verstärkt freigesetzt. Abweichungen von diesem Verhalten konnten auf die unterschiedlichen Dichten von unterschiedlichen Oxidationszuständen der Elemente und den daraus resultierenden Volumenkonzentrations-Unterschieden zurückgeführt werden. Die Freisetzungen folgten einer Kinetik zweiter Ordnung, woraus geschlossen wurde, dass innerhalb der ersten 24 h die Diffusion und anschließend die Oxidation der Nanopartikel die geschwindigkeitsbestimmenden Schritte darstellten.



Zur Bestimmung des Ionenhaushalts in einer normal heilenden Wunde wurden ICP-MS-Analysen (Kooperation mit der Aquatischen Ökologie der Universität Duisburg-Essen) von Rattenhaut zu verschiedenen Wundheilungszeiten in Kooperation mit der Medizinischen Hochschule Hannover durchgeführt. Nach der Validierung der Messmethode mit Referenzmaterialien und Wiederfindungsraten zwischen 81,4 %-97,5 % für die Elemente Zink, Eisen und Kupfer wurde die verwendete Methode als geeignet eingestuft. Die Ionenkonzentrationen in Normalhaut (Haut zum Zeitpunkt 0) wichen mit Werten von $31,84 \pm 3,18 \mu\text{g/g}$ Zink, $2,50 \pm 0,23 \mu\text{g/g}$ Kupfer und $0,32 \pm 0,02 \text{ mg/g}$ Magnesium nur geringfügig von den in der Literatur bekannten Werten ab. Im Wundheilungsverlauf konnte gezeigt werden, dass Magnesium in der höchsten und Kupfer in der geringsten Konzentration vorlag. Sowohl die Konzentration von Kupfer als auch von Magnesium und Eisen erhöhten

sich im Wundheilungsverlauf bis zu einem Maximalwert (Cu 13 µg/g, Tag 2; Mg 524 µg/g, Tag 3 und Fe 460 µg/g, Tag 3), nachdem sie dann wieder auf das Niveau der Normalhaut absanken. Die Konzentration von Zink blieb über den gesamten Zeitraum nahezu konstant. Nach dem Vergleich der Ionenkonzentrationen von Eisen, Zink und Kupfer von Normalhaut bei Ratten und Menschen konnte gezeigt werden, dass die erhaltenen Ergebnisse auch auf den Menschen übertragbar sind. Basierend auf diesen Ergebnissen ist das hergestellte Fasermaterial als Ionenfreisetzungssystem zur Wundheilungsunterstützung hier anwendbar, da durch eine Kombination der Elemente Mg, Fe, Zn und Cu eine Unterstützung des Ionenhaushalts der Wunde über einen Zeitraum von mindestens 105 h möglich ist.



Reicht eine oberflächliche Behandlung von Wunden nicht mehr aus und es muss auf einen Gewebeersatz zurückgegriffen werden, so ist der Bereich des Tissue Engineering betroffen. Zur Züchtung werden dabei Gerüste, sogenannte Scaffolds, hergestellt, auf welchem die Zellen zum Gewebeersatz wachsen sollen. Die Zelladhäsion stellt dabei einen wichtigen Aspekt in der Entwicklung solcher Scaffolds dar. In dieser Arbeit wurde in Kooperation mit dem Arbeitskreis von Prof. Fischer (Universitätsklinikum Aachen) ein Scaffold, bestehend aus Nanopartikel-beladenem Alginat, in Form von Röhren durch Bioextrusion, als Beispiel zur Züchtung künstlicher Gefäße, hergestellt. Die Herstellung der Nanopartikel-beladenen Alginat erfolgte dabei erneut über den gepulsten Laserabtrag, bei dem die Nanopartikel *in situ* in das Alginat eingebracht wurden. Daraus resultierten langzeitstabile Dispersionen mit mittleren Nanopartikeldurchmessern von $3,1 \pm 1,7$ nm (Au) und $6,3 \pm 1,1$ nm (Fe). Die Umhüllung der Nanopartikel mit einer Alginathülle und das daraus resultierenden Größenquenching konnte über die Bestimmung des Interpartikelabstands nachgewiesen werden. Die Extrusion führte zu langen Röhren, in denen die Nanopartikel immobilisiert waren. Die Konfokalmikroskopie zeigte sowohl für das Gold- als auch für das Eisen-Nanopartikel-beladene Alginat eine homogene Verteilung der Nanopartikel über den gesamten Röhrenquerschnitt, vorliegend als Agglomerate, ohne dass freie Nanopartikel auf oder nahe der Oberfläche gefunden werden konnten. Die Beeinflussung der mechanischen Eigenschaften konnte durch niedrigere Elastizitätsmodule (25,4 kPa (Fe), 22,5 kPa (Au)) und höheren Quellraten (77 % (Fe), 73 % (Au)) der Nanopartikel-beladenen Alginat im Vergleich zu einem unbeladenen

Alginate (28,8 kPa, 57 %) gezeigt werden, was auf eine Veränderung der Struktur des Hydrogels zurückgeführt wurde. Die Hydrophilie des Polymers wurde hingegen nicht beeinflusst. Das System war hoch biokompatibel und zeigte für HUVECs (humane Endothelzellen) eine signifikant verbesserte Zelladhäsion, höhere Viabilität und Aktinfilament-Expression auf Eisen-Nanopartikel-beladenen Hydrogelen, was auf die Freisetzung von Eisenionen aus dem Hydrogel zurückgeführt wurde. Somit kann das hergestellte System die Basis für jegliche Form von Scaffolds zur Zellzüchtung darstellen und für das jeweilige Anwendungsgebiet in seiner Form angepasst werden.



Neben Endothelzellen stellen Stammzellen die wichtigsten Zellen des menschlichen Körpers dar, da sie jeden beliebigen Zelltyp bilden können. Die Beeinflussung dieser Zelldifferenzierung könnte daher die Möglichkeit bieten gezielt Zelltypen herzustellen. Unter der Verwendung von Polyethylenglykol diacrylat wurden über den Laserabtrag Eisen- und Gold-Nanopartikel mit einem mittleren Durchmesser von $4,8 \text{ nm} \pm 4,3 \text{ nm}$ (Au) im Hydrogel hergestellt. Diese Lösungen konnten zu Plättchen verarbeitet werden, die im Konfokalmikroskop eine homogene Nanopartikelverteilung im gesamten Gelplättchen zeigten, wobei auch die Bildung von Agglomeraten zu erkennen war. Erste Testungen der Eisenionenfreisetzung zeigten eine Freisetzung über einen Zeitraum von sieben Tagen. In ersten Einzelversuchen (in Kooperation mit dem Karlsruher Institut für Technologie) konnte zudem eine Beschleunigung der frühen Differenzierung der hämatopoetischen Stammzellen zu CD235 durch die Nanopartikel-beladenen Hydrogele beobachtet werden. Die Differenzierung stagnierte danach jedoch und keine Erythrozyten wurden gebildet. Aufgrund fehlender Experimentwiederholungen sind diese Ergebnisse bisher nur ein Hinweis darauf, dass die Differenzierungsbeeinflussung durch die Nanopartikel-beladenen Gele gelingen kann.

Diese Arbeit stellt einen umfassenden Beitrag zur laserbasierten und rein wässrigen Herstellung von Ionenfreisetzungssystemen zur Behandlung von Brandwunden, Züchtung von Gewebeersatzmaterialien und zur gezielten Zelldifferenzierung dar. Es konnten Systeme generiert werden, die in allen drei Bereichen eine Verbesserung der biologischen Zellreaktionen bewirken. Da die gezeigten Systeme für jede Wundumgebung und jeden Zelltypen angepasst werden können, indem das

eingebettete Nanopartikelmaterial variiert wird, bietet dies die Möglichkeit des gezielten Einsatzes in einer großen Breite von Wundbehandlungen und Zellzüchtungen, was einen großen Fortschritt in der modernen Medizin bedeuten kann.

8. Verzeichnisse

8.1 Literaturverzeichnis

- [1] D. Zhang, B. Gökce, and S. Barcikowski. Laser synthesis and processing of colloids: Fundamentals and applications. *Chemical Reviews*, 117(5):3990–4103, 2017.
- [2] M. Rai, A. P. Ingle, S. Birla, A. Yadav, and C. A. D. Santos. Strategic role of selected noble metal nanoparticles in medicine. *Critical Reviews in Microbiology*, 42(5):696–719, 2016.
- [3] S. E. Lohse and C. J. Murphy. Applications of colloidal inorganic nanoparticles: from medicine to energy. *Journal of the American Chemical Society*, 134(38):15607–15620, 2012.
- [4] M. G. Harisinghani, J. Barentsz, P. F. Hahn, W. M. Deserno, S. Tabatabaei, C. H. van de Kaa, J. de la Rosette, and R. Weissleder. Noninvasive detection of clinically occult lymph-node metastases in prostate cancer. *The New England Journal of Medicine*, 2003(348):2491–2499, 2003.
- [5] <http://www.verbrennungsmedizin.de/pdf/verbrennungsstatistik-2012.pdf>, 16.10.2016.
- [6] <http://www.verbrennungsmedizin.de/pdf/verbrennungsstatistik-2013.pdf>, 16.10.2016.
- [7] <http://www.verbrennungsmedizin.de/pdf/verbrennungsstatistik-2014.pdf>, 16.10.2016.
- [8] R. Augustine, E. A. Dominic, I. Reju, B. Kaimal, N. Kalarikkal, and S. Thomas. Electrospun polycaprolactone membranes incorporated with zno nanoparticles as skin substitutes with enhanced fibroblast proliferation and wound healing. *RSC Advances*, 4(47):24777–24785, 2014.
- [9] A. B. G. Lansdown, U. Mirastschijski, N. Stubbs, E. Scanlon, and M. S. Agren. Zinc in wound healing: Theoretical, experimental, and clinical aspects. *Wound Repair and Regeneration*, 15(1):2–16, 2007.
- [10] S. V. Murphy and A. Atala. 3d bioprinting of tissues and organs. *Nature Biotechnology*, 32(8):773–785, 2014.

- [11] R. Langer and J. P. Vacanti. Tissue engineering. *Science*, 260(5110):920–926, 1993.
- [12] J. Henkel and D. W. Hutmacher. Design and fabrication of scaffold-based tissue engineering. *BioNanoMaterials*, 14(3-4):171–193, 2013.
- [13] C. Hess, A. Schwenke, P. Wagener, S. Franzka, C. Laszlo Sajti, M. Pflaum, B. Wiegmann, A. Haverich, and S. Barcikowski. Dose-dependent surface endothelialization and biocompatibility of polyurethane noble metal nanocomposites. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 102(6):1909–1920, 2014.
- [14] M. M. Berger and A. Shenkin. Trace element requirements in critically ill burned patients. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 21:44–48, 2007.
- [15] E. N. Sowa-Söhle, A. Schwenke, P. Wagener, A. Weiss, H. Wiegel, C. L. Sajti, A. Haverich, S. Barcikowski, and A. Loos. Antimicrobial efficacy, cytotoxicity, and ion release of mixed metal (ag, cu, zn, mg) nanoparticle polymer composite implant material. *BioNanoMaterials*, 14(3-4):217–227, 2013.
- [16] A. Hahn, S. Günther, P. Wagener, and S. Barcikowski. Electrochemistry-controlled metal ion release from silicone elastomer nanocomposites through combination of different metal nanoparticles. *Journal of Materials Chemistry*, 21:10287–10289, 2011.
- [17] C. Damm and H. Muenstedt. Kinetic aspects of the silver ion release from antimicrobial polyamide/silver nanocomposites. *Applied Physics A*, 91(3):479–486, 2008.
- [18] T. Tsuji, D.-H. Thang, Y. Okazaki, M. Nakanishi, Y. Tsuboi, and M. Tsuji. Preparation of silver nanoparticles by laser ablation in polyvinylpyrrolidone solutions. *Applied Surface Science*, 254(16):5224 – 5230, 2008.
- [19] P. Wagener, G. Brandes, A. Schwenke, and S. Barcikowski. Impact of in situ polymer coating on particle dispersion into solid laser-generated nanocomposites. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 13(11):5120–5126, 2011.
- [20] A. Pich, A. Karak, Y. Lu, A. K. Ghosh, and H.-J. P. Adler. Preparation of hybrid microgels functionalized by silver nanoparticles. *Macromolecular Rapid Communications*, 27(5):344–350, 2006.

- [21] S. S. Makridis, E. I. Gkanas, G. Panagakos, E. S. Kikkinides, A. K. Stubos, P. Wagener, and S. Barcikowski. Polymer-stable magnesium nanocomposites prepared by laser ablation for efficient hydrogen storage. *International Journal of Hydrogen Energy*, 38(26):11530 – 11535, 2013.
- [22] A. Menendez-Manjon, A. Schwenke, T. Steinke, M. Meyer, U. Giese, P. Wagener, and S. Barcikowski. Ligand-free gold–silver nanoparticle alloy polymer composites generated by picosecond laser ablation in liquid monomer. *Applied Physics A*, 110(2):343–350, 2013.
- [23] S.-H. Hsu, C.-M. Tang, and H.-J. Tseng. Biocompatibility of poly (ether) urethane-gold nanocomposites. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 79(4):759–770, 2006.
- [24] S. Barcikowski and G. Compagnini. Advanced nanoparticle generation and excitation by lasers in liquids. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 15:3022–3026, 2013.
- [25] V. Amendola and M. Meneghetti. Laser ablation synthesis in solution and size manipulation of noble metal nanoparticles. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 11:3805–3821, 2009.
- [26] C. Rehbock, J. Jakobi, L. Gamrad, S. van der Meer, D. Tiedemann, U. Taylor, W. Kues, D. Rath, and S. Barcikowski. Current state of laser synthesis of metal and alloy nanoparticles as ligand-free reference materials for nano-toxicological assays. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 5(1):1523–1541, 2014.
- [27] V. Amendola and M. Meneghetti. What controls the composition and the structure of nanomaterials generated by laser ablation in liquid solution? *Physical Chemistry Chemical Physics*, 15:3027–3046, 2013.
- [28] A. De Bonis, M. Sansone, A. Galasso, A. Santagata, and R. Teghil. The role of the solvent in the ultrashort laser ablation of palladium target in liquid. *Applied Physics A*, 117(1):211–216, 2014.
- [29] D. O. Oseguera-Galindo, A. Martinez-Benitez, A. Chavez-Chavez, G. Gomez-Rosas, A. Perez-Centeno, and M. A. Santana-Aranda. Effects of the confining solvent on the size distribution of silver nps by laser ablation. *Journal of Nanoparticle Research*, 14(9):1133, 2012.

- [30] K. D. Malviya and K. Chattopadhyay. High quality oxide-free metallic nanoparticles: a strategy for synthesis through laser ablation in aqueous medium. *Journal of Materials Science*, 50(2):980–989, 2015.
- [31] A. D. Pomogailo and V. N. Kestelman. Principles and mechanisms of nanoparticle stabilization by polymers. *Metallopolymer Nanocomposites*, 81:65–113, 2005.
- [32] D. H. Napper. Colloid stability. *Industrial & Engineering Chemistry Product Research and Development*, 9(4):467–477, 1970.
- [33] A. Lifshitz, M. Bidani, and S. Bidani. Thermal reactions of cyclic ethers at high temperatures. part 3. pyrolysis of tetrahydrofuran behind reflected shocks. *The Journal of Physical Chemistry*, 90(15):3422–3429, 1986.
- [34] E. Maurer, S. Barcikowski, and B. Gökce. Process chain for the fabrication of nanoparticle polymer composites by laser ablation synthesis. *Chemical Engineering & Technology*, 2016.
- [35] S. Besner, A. V. Kabashin, F. M. Winnik, and M. Meunier. Synthesis of size-tunable polymer-protected gold nanoparticles by femtosecond laser-based ablation and seed growth. *Journal of Physical Chemistry C*, 113(22):9526–9531, 2009.
- [36] J. Schwegler and R. Lucius. *Der Mensch: Anatomie und Physiologie*. Georg Thieme Verlag KG, 5 edition, 2011.
- [37] D. Dr. L. P. Kamolz et al. Verbrennung und verbrennungsbehandlung. In *Manual der Wundheilung*, pages 207–215. Springer, 2007.
- [38] L. H. Evers, D. Bhavsar, and P. Mailänder. The biology of burn injury. *Experimental Dermatology*, 19(9):777–783, 2010.
- [39] American Burn Association et al. Advanced burn life support course. *Chicago: American Burn Association*, 2001.
- [40] L.-P. Kamolz, D. N. Herndon, and M. G. Jeschke. *Verbrennungen: Diagnose, Therapie und Rehabilitation des thermischen Traumas*. Springer-Verlag, 2010.
- [41] J. Tobiasen, J. M. Hiebert, and R. F. Edlich. The abbreviated burn severity index. *Annals of Emergency Medicine*, 11(5):260–262, 1982.

- [42] G. C. Bloemsma, J. Dokter, H. Boxma, and I. M. M. H. Oen. Mortality and causes of death in a burn centre. *Burns*, 34(8):1103–1107, 2008.
- [43] G. C. Gurtner, S. Werner, Y. Barrandon, and M. T. Longaker. Wound repair and regeneration. *Nature*, 453(7193):314–321, 2008.
- [44] H. D. Becker and S. Coerper. Wunde, wundheilung und wundbehandlung. In *Chirurgie*, pages 113–127. Springer, 2001.
- [45] T. J. Shaw and P. Martin. Wound repair at a glance. *Journal of Cell Science*, 122(18):3209–3213, 2009.
- [46] J. Hudspith and S. Rayatt. First aid and treatment of minor burns. *British Medical Journal*, 328(7454):1487, 2004.
- [47] P. H. Walter. Burn wound management. *AACN Advanced Critical Care*, 4(2):378–387, 1993.
- [48] V. S. Voruganti, G. L. Klein, H.-X. Lu, S. Thomas, J. H. Freeland-Graves, and D. N. Herndon. Impaired zinc and copper status in children with burn injuries: Need to reassess nutritional requirements. *Burns*, 31(6):711 – 716, 2005.
- [49] A. B. G. Lansdown, B. Sampson, and A. Rowe. Sequential changes in trace metal, metallothionein and calmodulin concentrations in healing skin wounds. *Journal of Anatomy*, 195(3):375–386, 1999.
- [50] J. Koolman and K.-H. Röhm. *Taschenatlas: Biochemie des Menschen*. Georg Thieme Verlag KG, 4 edition, 2009.
- [51] M. S. Agren, M. Chvapil, and L. Franzén. Enhancement of re-epithelialization with topical zinc oxide in porcine partial-thickness wounds. *Journal of Surgical Research*, 50(2):101 – 105, 1991.
- [52] M. W. Terhune and H. H. Sandstead. Decreased rna polymerase activity in mammalian zinc deficiency. *Science*, 177(4043):68–69, 1972.
- [53] M. C. Scrutton, C. W. Wu, and D. A. Goldthwait. The presence and possible role of zinc in rna polymerase obtained from escherichia coli. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 68(10):2497–2501, 1971.
- [54] J. Versieck and R. Cornelis. Normal levels of trace elements in human blood plasma or serum. *Analytica Chimica Acta*, 116(2):217–254, 1980.

- [55] H. Tapiero, D. M. Townsend, and K. D. Tew. Trace elements in human physiology and pathology. copper. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 57(9):386–398, 2003.
- [56] D. Herzog. Die bedeutung von kupfer im menschlichen körper: eine kurze Übersicht. *Schweizer Zeitschrift für Ernährungsmedizin*, 8:30–34, 2010.
- [57] M. Binnebösel, J. Grommes, B. Koenen, K. Junge, C. Klink, M. Stumpf, A. Öttinger, V. Schumpelick, U. Klinge, and C. Krones. Zinc deficiency impairs wound healing of colon anastomosis in rats. *International Journal of Colorectal Disease*, 25:251–257, 2010.
- [58] <https://www.zentiva.de/produkte/zinksalbe-lichtenstein/downloads?id=a7426150-a10d-4e1d-a99a-e8069192e622>, 13.04.2017.
- [59] http://www.sinclairpharma.de/wp-content/uploads/2015/09/flammazine_fachinformation_2015-05.pdf, 13.04.2017.
- [60] http://www.smith-nephew.com/global/assets/pdf/deutschland/smith_nephew_wundmanagement_produktkatalog_02_2017.pdf, 13.04.2017.
- [61] C. A. Vacanti and J. P. Vacanti. The science of tissue engineering. *Orthopedic Clinics of North America*, 31(3):351–355, 2000.
- [62] J. Malda, J. Visser, F. P. Melchels, T. Jüngst, W. E. Hennink, W. J. A. Dhert, J. Groll, and D. W. Hutmacher. 25th anniversary article: engineering hydrogels for biofabrication. *Advanced Materials*, 25(36):5011–5028, 2013.
- [63] Y. Zhou, D. W. Hutmacher, S.-L. Varawan, and T. M. Lim. In vitro bone engineering based on polycaprolactone and polycaprolactone–tricalcium phosphate composites. *Polymer International*, 56(3):333–342, 2007.
- [64] P. Wutticharoenmongkol, N. Sanchavanakit, P. Pavasant, and P. Supaphol. Novel bone scaffolds of electrospun polycaprolactone fibers filled with nanoparticles. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 6(2):514–522, 2006.
- [65] C. Weinand, I. Pomerantseva, C. M. Neville, R. Gupta, E. Weinberg, I. Madisch, F. Shapiro, H. Abukawa, M. J. Troulis, and J. P. Vacanti. Hydrogel-beta-tcp scaffolds and stem cells for tissue engineering bone. *Bone*, 38(4):555–563, 2006.

- [66] F. Ko, Y. Gogotsi, A. Ali, N. Naguib, H. Ye, G. L. Yang, C. Li, and P. Willis. Electrospinning of continuous carbon nanotube-filled nanofiber yarns. *Advanced Materials*, 15(14):1161–1165, 2003.
- [67] Y. Dror, W. Salalha, R. L. Khalfin, Y. Cohen, A. L. Yarin, and E. Zussman. Carbon nanotubes embedded in oriented polymer nanofibers by electrospinning. *Langmuir*, 19(17):7012–7020, 2003.
- [68] E. S. Place, J. H. George, C. K. Williams, and M. M. Stevens. Synthetic polymer scaffolds for tissue engineering. *Chemical Society Reviews*, 38(4):1139–1151, 2009.
- [69] L. L. Hench and J. M. Polak. Third-generation biomedical materials. *Science*, 295(5557):1014–1017, 2002.
- [70] M. Schnabelrauch and J. H. Clement. Design von bioaktiven und nanostrukturierten oberflächen. *Der Onkologe*, 13(10):917–930, 2007.
- [71] T. L. Lambert, V. Dev, E. Rechavia, J. S. Forrester, F. Litvack, and N. L. Eigler. Localized arterial wall drug delivery from a polymer-coated removable metallic stent. kinetics, distribution, and bioactivity of forskolin. *Circulation*, 90(2):1003–1011, 1994.
- [72] R. Müller, J. Abke, E. Schnell, F. Macionczyk, U. Gbureck, R. Mehrl, Z. Ruszczak, R. Kujat, C. Englert, M. Nerlich, et al. Surface engineering of stainless steel materials by covalent collagen immobilization to improve implant biocompatibility. *Biomaterials*, 26(34):6962–6972, 2005.
- [73] Nanotechnologien - fachwörterverzeichnis - teil 4: Nanostrukturierte materialien. *DIN CEN ISO/TS 80004-4 (DIN SPEC 52400-4):2015-03, CEN ISO/TS 80004-4:2014 (D)*.
- [74] K. Riehemann, S. W. Schneider, T. A. Luger, B. Godin, M. Ferrari, and H. Fuchs. Nanomedizin—herausforderung und perspektiven. *Angewandte Chemie*, 121(5):886–913, 2009.
- [75] Nanotechnologien - terminologie und begriffe für nanopobjekte - nanopartikel, nanofaser und nanoplättchen. *DIN ISO/TS 27687:2008 (DIN SPEC 1121:2010-02); CEN ISO/TS 27687:2009 (D)*.
- [76] S. Koltzenburg, M. Maskos, O. Nuyken, and R. Mülhaupt. *Polymere: Synthese, Eigenschaften und Anwendungen*. Springer, 2014.

- [77] B. Tieke. *Makromolekulare Chemie: Eine Einführung*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2005.
- [78] M. Karg and T. Hellweg. Smart inorganic/organic hybrid microgels: Synthesis and characterisation. *Journal of Materials Chemistry*, 19:8714–8727, 2009.
- [79] A. Z. Pich and H.-J. P. Adler. Composite aqueous microgels: an overview of recent advances in synthesis, characterization and application. *Polymer International*, 56(3):291–307, 2007.
- [80] M. Agrawal, A. Pich, S. Gupta, N. E. Zafeiropoulos, J. Rubio-Retama, F. Simon, and M. Stamm. Temperature sensitive hybrid microgels loaded with zno nanoparticles. *Journal of Materials Chemistry*, 18:2581–2586, 2008.
- [81] Z. Meng, M. Smith, and L. Lyon. Temperature-programmed synthesis of micron-sized multi-responsive microgels. *Colloid & Polymer Science*, 287:277–285, 2009. 10.1007/s00396-008-1986-8.
- [82] V. Boyko, A. Pich, Y. Lu, S. Richter, K. Arndt, and H. P. Adler. Thermo-sensitive poly(n-vinylcaprolactam-co-acetoacetoxyethyl methacrylate) microgels: 1-synthesis and characterization. *Polymer*, 44(26):7821 – 7827, 2003.
- [83] H.-D. Dörfler. *Grenzflächen und kolloid-disperse Systeme: Physik und Chemie*. Springer, 2002.
- [84] A. S. Hoffman. Hydrogels for biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54(1):3 – 12, 2002. Recent Developments in Hydrogels.
- [85] T. P. Nguyen. *Polymer Composites, Vol. 2: Nanocomposites*, chapter 11.5, page 268. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2013.
- [86] W. E. Hennink and C. F. Van Nostrum. Novel crosslinking methods to design hydrogels. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64:223–236, 2012.
- [87] K. Y. Lee and D. J. Mooney. Alginate: properties and biomedical applications. *Progress in Polymer Science*, 37(1):106–126, 2012.
- [88] P. Gacesa. Alginates. *Carbohydrate Polymers*, 8(3):161–182, 1988.
- [89] A. Penman and G. R. Sanderson. A method for the determination of uronic acid sequence in alginates. *Carbohydrate Research*, 25(2):273–282, 1972.

- [90] O. Smidsrod, G. Skja, et al. Alginate as immobilization matrix for cells. *Trends in Biotechnology*, 8:71–78, 1990.
- [91] Y. Liu, S. Chen, L. Zhong, and G. Wu. Preparation of high-stable silver nanoparticle dispersion by using sodium alginate as a stabilizer under gamma radiation. *Radiation Physics and Chemistry*, 78(4):251–255, 2009.
- [92] J. L. Drury and D. J. Mooney. Hydrogels for tissue engineering: scaffold design variables and applications. *Biomaterials*, 24(24):4337–4351, 2003.
- [93] J. L. Drury, R. G. Dennis, and D. J. Mooney. The tensile properties of alginate hydrogels. *Biomaterials*, 25(16):3187–3199, 2004.
- [94] C. K. Kuo and P. X. Ma. Ionically crosslinked alginate hydrogels as scaffolds for tissue engineering: part 1. structure, gelation rate and mechanical properties. *Biomaterials*, 22(6):511–521, 2001.
- [95] G. T. Grant, E. R. Morris, D. A. Rees, P. J. C. Smith, and D. Thom. Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: the egg-box model. *FEBS Letters*, 32(1):195–198, 1973.
- [96] N. T. Anh, D. Van Phu, N. N. Duy, B. D. Du, and N. Q. Hien. Synthesis of alginate stabilized gold nanoparticles by γ -irradiation with controllable size using different Au^{3+} concentration and seed particles enlargement. *Radiation Physics and Chemistry*, 79(4):405–408, 2010.
- [97] S. Barcikowski, M. Hustedt, and B. Chichkov. Nanocomposite manufacturing using ultrashort-pulsed laser ablation in solvents and monomers. *Polimery*, 53(9), 2008.
- [98] A. Al-Shamkhani and R. Duncan. Radioiodination of alginate via covalently-bound tyrosinamide allows monitoring of its fate in vivo. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 10(1):4–13, 1995.
- [99] J. A. Rowley, G. Madlambayan, and D. J. Mooney. Alginate hydrogels as synthetic extracellular matrix materials. *Biomaterials*, 20(1):45–53, 1999.

- [100] P. Prang, R. Müller, A. Eljaouhari, K. Heckmann, W. Kunz, T. Weber, C. Faber, M. Vroemen, U. Bogdahn, and N. Weidner. The promotion of oriented axonal regrowth in the injured spinal cord by alginate-based anisotropic capillary hydrogels. *Biomaterials*, 27(19):3560–3569, 2006.
- [101] A. Mosahebi, M. Wiberg, and G. Terenghi. Addition of fibronectin to alginate matrix improves peripheral nerve regeneration in tissue-engineered conduits. *Tissue Engineering*, 9(2):209–218, 2003.
- [102] N. O. Dhoot, C. A. Tobias, I. Fischer, and M. A. Wheatley. Peptide-modified alginate surfaces as a growth permissive substrate for neurite outgrowth. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 71(2):191–200, 2004.
- [103] S. Saha, A. Pal, S. Kundu, S. Basu, and T. Pal. Photochemical green synthesis of calcium-alginate-stabilized ag and au nanoparticles and their catalytic application to 4-nitrophenol reduction. *Langmuir*, 26(4):2885–2893, 2009.
- [104] B. R. Saunders and B. Vincent. Microgel particles as model colloids: theory, properties and applications. *Advances in Colloid and Interface Science*, 80(1):1–25, 1999.
- [105] P. Nachev, D. D. van't Zand, V. Coger, P. Wagener, K. Reimers, P. M. Vogt, S. Barcikowski, and A. Pich. Synthesis of hybrid microgels by coupling of laser ablation and polymerization in aqueous medium. *Journal of Laser Applications*, 24(4):042012, 2012.
- [106] Q. Shi, N. Vitchuli, J. Nowak, J. Noar, J. M. Caldwell, F. Breidt, M. Bourham, M. McCord, and X. Zhang. One-step synthesis of silver nanoparticle-filled nylon 6 nanofibers and their antibacterial properties. *Journal of Materials Chemistry*, 21(28):10330–10335, 2011.
- [107] B. A. Katsnelson, L. I. Privalova, V. B. Gurvich, O. H. Makeyev, V. Y. Shur, Y. B. Beikin, M. P. Sutunkova, E. P. Kireyeva, I. A. Minigalieva, N. V. Loginova, et al. Comparative in vivo assessment of some adverse bioeffects of equidimensional gold and silver nanoparticles and the attenuation of nanosilver's effects with a complex of innocuous bioprotectors. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(2):2449–2483, 2013.

- [108] K. Meyer, P. Rajanahalli, M. Ahamed, J. J. Rowe, and Y. Hong. ZnO nanoparticles induce apoptosis in human dermal fibroblasts via p53 and p38 pathways. *Toxicology in Vitro*, 25(8):1721 – 1726, 2011.
- [109] X. Wu, Y. Tan, H. Mao, and M. Zhang. Toxic effects of iron oxide nanoparticles on human umbilical vein endothelial cells. *International Journal of Nanomedicine*, 5:385–399, 2010.
- [110] S. Cai, X. Xia, and C. Xie. Corrosion behavior of copper/lDPE nanocomposites in simulated uterine solution. *Biomaterials*, 26(15):2671 – 2676, 2005.
- [111] A. Hahn, G. Brandes, P. Wagener, and S. Barcikowski. Metal ion release kinetics from nanoparticle silicone composites. *Journal of Controlled Release*, 154:164–170, 2011.
- [112] C. Jouwersma. Die diffusion von wasser in kunststoffe. *Chemie Ingenieur Technik*, 31(10):652–658, 1959.
- [113] A. Hahn. *Lasergenerierte Nanomaterialien für bioaktive Implantate*. PhD thesis, Gottfried Wilhelm Leibnitz Universität Hannover, Fakultät für Maschinenbau, 2011.
- [114] P. Borm, F. C. Klaessig, T. D. Landry, B. Moudgil, J. Pauluhn, K. Thomas, R. Trottier, and S. Wood. Research strategies for safety evaluation of nanomaterials, part v: role of dissolution in biological fate and effects of nanoscale particles. *Toxicological Sciences*, 90(1):23–32, 2006.
- [115] C. Radheshkumar and H. Münstedt. Antimicrobial polymers from polypropylene/silver composites—Ag⁺ release measured by anode stripping voltammetry. *Reactive and Functional Polymers*, 66(7):780–788, 2006.
- [116] Z. Yang and C. Xie. Zn²⁺ release from zinc and zinc oxide particles in simulated uterine solution. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 47(2):140 – 145, 2006.
- [117] C. Triebel, S. Vasylyev, C. Damm, H. Stara, C. Özpınar, S. Hausmann, W. Peukert, and H. Münstedt. Polyurethane/silver-nanocomposites with enhanced silver ion release using multifunctional invertible polyesters. *Journal of Materials Chemistry*, 21(12):4377–4383, 2011.

- [118] A. P. Tinke, K. Vanhoutte, R. De Maesschalck, S. Verheyen, and H. De Winter. A new approach in the prediction of the dissolution behavior of suspended particles by means of their particle size distribution. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 39(5):900–907, 2005.
- [119] S. Kittler, C. Greulich, J. Diendorf, M. Koller, and M. Eppler. Toxicity of silver nanoparticles increases during storage because of slow dissolution under release of silver ions. *Chemistry of Materials*, 22(16):4548–4554, 2010.
- [120] N. Alissawi, T. Peter, T. Strunskus, C. Ebbert, G. Grundmeier, and F. Faupel. Plasma-polymerized hmdso coatings to adjust the silver ion release properties of ag/polymer nanocomposites. *Journal of Nanoparticle Research*, 15(11):2080, 2013.
- [121] R. Kumar and H. Münstedt. Silver ion release from antimicrobial polyamide/silver composites. *Biomaterials*, 26(14):2081–2088, 2005.
- [122] P. Costa and J. M. S. Lobo. Modeling and comparison of dissolution profiles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13(2):123–133, 2001.
- [123] S. Dash, P. N. Murthy, L. Nath, and P. Chowdhury. Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 67(3):217–23, 2010.
- [124] P. L. Ritger and N. A. Peppas. A simple equation for description of solute release i. fickian and non-fickian release from non-swellable devices in the form of slabs, spheres, cylinders or discs. *Journal of Controlled Release*, 5(1):23–36, 1987.
- [125] T.-R. Kuo, V. A. Hovhannisyan, Y.-C. Chao, S.-L. Chao, S.-J. Chiang, S.-J. Lin, C.-Y. Dong, and C.-C. Chen. Multiple release kinetics of targeted drug from gold nanorod embedded polyelectrolyte conjugates induced by near-infrared laser irradiation. *Journal of the American Chemical Society*, 132(40):14163–14171, 2010.
- [126] M. Barzegar-Jalali, K. Adibkia, H. Valizadeh, M. R. S. Shadbad, A. Nokhodchi, Y. Omid, G. Mohammadi, S. H. Nezhadi, and M. Hasan. Kinetic analysis of drug release from nanoparticles. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 11(1):167–177, 2008.
- [127] R. W. Korsmeyer, R. Gurny, E. Doelker, P. Buri, and N. A. Peppas. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *International Journal of Pharmaceutics*, 15(1):25–35, 1983.

- [128] T. Higuchi. Mechanism of sustained-action medication. theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 52(12):1145–1149, 1963.
- [129] S. Ahlberg, M. C. Meinke, L. Werner, M. Epple, J. Diendorf, U. Blume-Peytavi, J. Lademann, A. Vogt, and F. Rancan. Comparison of silver nanoparticles stored under air or argon with respect to the induction of intracellular free radicals and toxic effects toward keratinocytes. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 88(3):651–657, 2014.
- [130] J. Tian, K. K. Y. Wong, C.-M. Ho, C.-N. Lok, W.-Y. Yu, C.-M. Che, J.-F. Chiu, and P. K. H. Tam. Topical delivery of silver nanoparticles promotes wound healing. *ChemMedChem*, 2(1):129–136, 2007.
- [131] K. E. Uhrich, S. M. Cannizzaro, R. S. Langer, and K. M. Shakesheff. Polymeric systems for controlled drug release. *Chemical Reviews*, 99(11):3181–3198, 1999.
- [132] A. Hahn, T. Stöver, G. Paasche, M. Löbner, K. Sternberg, H. Rohm, and S. Barcikowski. Therapeutic window for bioactive nanocomposites fabricated by laser ablation in polymer-doped organic liquids. *Advanced Engineering Materials*, 12(5):B156–B162, 2010.
- [133] L. Wang, J. Li, R. Hong, and H. Li. *Polymer Composites, Vol. 2: Nanocomposites*, chapter 2.5, pages 26–27. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2013.
- [134] G. D. Liang, S. P. Bao, and S. C. Tjong. Microstructure and properties of polypropylene composites filled with silver and carbon nanotube nanoparticles prepared by melt-compounding. *Materials Science and Engineering: B*, 142(2):55–61, 2007.
- [135] A. Schwenke, P. Wagener, A. Weiß, K. Klimenta, H. Wiegel, L. Sajti, and S. Barcikowski. Laserbasierte generierung matrixbinderfreier nanopartikel-polymerkomposite für bioaktive medizinalprodukte. *Chemie Ingenieur Technik*, 85(5):740–746, 2013.
- [136] C. Raab, M. Simkó, U. Fiedeler, M. Nentwich, and A. Gázsó. Herstellungsverfahren von nanopartikeln und nanomaterialien. *NanoTrust-Dossiers*, 006:1–4, 2008.

- [137] D. Zhang and S. Barcikowski. Rapid nanoparticle-polymer composites prototyping by laser ablation in liquids. *Encyclopedia of Polymeric Nanomaterials*, pages 2131–2141, 2015.
- [138] P. Wagener, A. Schwenke, B. N. Chichkov, and S. Barcikowski. Pulsed laser ablation of zinc in tetrahydrofuran: Bypassing the cavitation bubble. *Journal of Physical Chemistry C*, 114(17):7618–7625, 2010.
- [139] S. V. Rao, G. K. Podagatlapalli, and S. Hamad. Ultrafast laser ablation in liquids for nanomaterials and applications. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 14(2):1364–1388, 2014.
- [140] A. De Giacomo, M. Dell’Aglio, A. Santagata, R. Gaudioso, O. De Pascale, P. Wagener, G. C. Messina, G. Compagnini, and S. Barcikowski. Cavitation dynamics of laser ablation of bulk and wire-shaped metals in water during nanoparticles production. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 15(9):3083–3092, 2013.
- [141] T. Tsuji, Y. Okazaki, Y. Tsuboi, and M. Tsuji. Nanosecond time-resolved observations of laser ablation of silver in water. *Japanese Journal of Applied Physics*, 46(4R):1533, 2007.
- [142] S. Ibrahimkutty, P. Wagener, A. Menzel, A. Plech, and S. Barcikowski. Nanoparticle formation in a cavitation bubble after pulsed laser ablation in liquid studied with high time resolution small angle x-ray scattering. *Applied Physics Letters*, 101(10):103104, 2012.
- [143] P. Wagener, S. Ibrahimkutty, A. Menzel, A. Plech, and S. Barcikowski. Dynamics of silver nanoparticle formation and agglomeration inside the cavitation bubble after pulsed laser ablation in liquid. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 15(9):3068–3074, 2013.
- [144] T. Tsuji, Y. Tsuboi, N. Kitamura, and M. Tsuji. Microsecond-resolved imaging of laser ablation at solid–liquid interface: investigation of formation process of nano-size metal colloids. *Applied surface science*, 229(1):365–371, 2004.
- [145] R. Tanabe, T. T. P. Nguyen, T. Sugiura, and Y. Ito. Bubble dynamics in metal nanoparticle formation by laser ablation in liquid studied through high-speed laser stroboscopic videography. *Applied Surface Science*, 351:327–331, 2015.

- [146] J. Tomko, J. J. Naddeo, R. Jimenez, Y. Tan, M. Steiner, J. M. Fitz-Gerald, D. M. Bubb, and S. M. O'Malley. Size and polydispersity trends found in gold nanoparticles synthesized by laser ablation in liquids. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 17(25):16327–16333, 2015.
- [147] R. Streubel, S. Barcikowski, and B. Gökce. Continuous multigram nanoparticle synthesis by high-power, high-repetition-rate ultrafast laser ablation in liquids. *Optics Letters*, 41(7):1486–1489, 2016.
- [148] R. Streubel, G. Bendt, and B. Gökce. Pilot-scale synthesis of metal nanoparticles by high-speed pulsed laser ablation in liquids. *Nanotechnology*, 27(20):205602, 2016.
- [149] E. Hecht. *Optik*. Oldenbourg Wissenschaftsverlag GmbH, 4 edition, 2005.
- [150] A. Menéndez-Manjón, P. Wagener, and S. Barcikowski. Transfer-matrix method for efficient ablation by pulsed laser ablation and nanoparticle generation in liquids. *Journal of Physical Chemistry C*, 115(12):5108–5114, 2011.
- [151] N. Bärsch, J. Jakobi, S. Weiler, and S. Barcikowski. Pure colloidal metal and ceramic nanoparticles from high-power picosecond laser ablation in water and acetone. *Nanotechnology*, 20(44):445603, 2009.
- [152] Y. Jiang, P. Liu, Y. Liang, H. B. Li, and G. W. Yang. Promoting the yield of nanoparticles from laser ablation in liquid. *Applied Physics A*, 105(4):903–907, 2011.
- [153] C. L. Sajti, R. Sattari, B. N. Chichkov, and S. Barcikowski. Gram scale synthesis of pure ceramic nanoparticles by laser ablation in liquid. *The Journal of Physical Chemistry C*, 114(6):2421–2427, 2010.
- [154] T. Tsuji, K. Iryo, Y. Nishimura, and M. Tsuji. Preparation of metal colloids by a laser ablation technique in solution: influence of laser wavelength on the ablation efficiency (ii). *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 145(3):201–207, 2001.
- [155] A. Schwenke, P. Wagener, S. Nolte, and S. Barcikowski. Influence of processing time on nanoparticle generation during picosecond-pulsed fundamental and second harmonic laser ablation of metals in tetrahydrofuran. *Applied Physics A*, 104(1):77–82, 2011.

- [156] S. Barcikowski, A. Menéndez-Manjón, B. Chichkov, M. Brikas, and G. Raciukaitis. Generation of nanoparticle colloids by picosecond and femtosecond laser ablations in liquid flow. *Applied Physics Letters*, 91(8):083113, 2007.
- [157] Svea Petersen, Jurij Jakobi, Angelika Hörtinger, and Stephan Barcikowski. In situ conjugation—tailored nanoparticle-conjugates by laser ablation in liquids. *Journal of laser Micro/Nanoengineering*, 4:71–74, 2009.
- [158] A. Hahn, S. Barcikowski, and B. N. Chichkov. Influences on nanoparticle production during pulsed laser ablation. *Pulse*, 40(45):50, 2008.
- [159] S. Petersen and S. Jakobi, J. and Barcikowski. In situ bioconjugation—novel laser based approach to pure nanoparticle-conjugates. *Applied Surface Science*, 255(10):5435–5438, 2009.
- [160] A. Baladi and R. S. Mamoory. Investigation of different liquid media and ablation times on pulsed laser ablation synthesis of aluminum nanoparticles. *Applied Surface Science*, 256(24):7559–7564, 2010.
- [161] N. G. Semaltianos, S. Logothetidis, N. Frangis, I. Tsiaoussis, W. Perrie, G. Dearden, and K. G. Watkins. Laser ablation in water: A route to synthesize nanoparticles of titanium monoxide. *Chemical Physics Letters*, 496(1):113–116, 2010.
- [162] H. Zeng, W. Cai, Y. Li, J. Hu, and P. Liu. Composition/structural evolution and optical properties of zno/zn nanoparticles by laser ablation in liquid media. *The Journal of Physical Chemistry B*, 109(39):18260–18266, 2005.
- [163] T. J.-Y. Derrien, R. Koter, J. Krüger, S. Höhm, A. Rosenfeld, and J. Bonse. Plasmonic formation mechanism of periodic 100-nm-structures upon femtosecond laser irradiation of silicon in water. *Journal of Applied Physics*, 116(7):074902, 2014.
- [164] A. Siegman and P. Fauchet. Stimulated wood’s anomalies on laser-illuminated surfaces. *IEEE Journal of Quantum Electronics*, 22(8):1384–1403, 1986.
- [165] H. M. Van Driel, J. E. Sipe, and J. F. Young. Laser-induced periodic surface structure on solids: a universal phenomenon. *Physical Review Letters*, 49(26):1955, 1982.

- [166] D. Dufft, A. Rosenfeld, S. K. Das, R. Grunwald, and J. Bonse. Femtosecond laser-induced periodic surface structures revisited: a comparative study on zno. *Journal of Applied Physics*, 105(3):034908, 2009.
- [167] J. Bonse, A. Rosenfeld, and J. Krüger. On the role of surface plasmon polaritons in the formation of laser-induced periodic surface structures upon irradiation of silicon by femtosecond-laser pulses. *Journal of Applied Physics*, 106(10):104910, 2009.
- [168] J. Bonse, M. Munz, and H. Sturm. Structure formation on the surface of indium phosphide irradiated by femtosecond laser pulses. *Journal of Applied Physics*, 97(1):013538, 2005.
- [169] J. Bonse, H. Sturm, D. Schmidt, and W. Kautek. Chemical, morphological and accumulation phenomena in ultrashort-pulse laser ablation of tin in air. *Applied Physics A*, 71(6):657–665, 2000.
- [170] J. Reif, F. Costache, M. Henyk, and S. V. Pandelov. Ripples revisited: non-classical morphology at the bottom of femtosecond laser ablation craters in transparent dielectrics. *Applied Surface Science*, 197:891–895, 2002.
- [171] A. Borowiec and H. K. Haugen. Subwavelength ripple formation on the surfaces of compound semiconductors irradiated with femtosecond laser pulses. *Applied Physics Letters*, 82(25):4462–4464, 2003.
- [172] J. Bonse and J. Krüger. Pulse number dependence of laser-induced periodic surface structures for femtosecond laser irradiation of silicon. *Journal of Applied Physics*, 108(3):034903, 2010.
- [173] T. J.-Y. Derrien, T. E. Itina, R. Torres, T. Sarnet, and M. Sentis. Possible surface plasmon polariton excitation under femtosecond laser irradiation of silicon. *Journal of Applied Physics*, 114(8):083104, 2013.
- [174] J. E. Sipe, J. F. Young, J. S. Preston, and H. M. Van Driel. Laser-induced periodic surface structure. i. theory. *Physical Review B*, 27(2):1141, 1983.
- [175] X.-F. Li, C.-Y. Zhang, H. Li, Q.-F. Dai, S. Lan, and S.-L. Tie. Formation of 100-nm periodic structures on a titanium surface by exploiting the oxidation and third harmonic generation induced by femtosecond laser pulses. *Optics Express*, 22(23):28086–28099, 2014.

- [176] J. Bonse, S. Höhm, R. Koter, M. Hartelt, D. Spaltmann, S. Pentzien, A. Rosenfeld, and J. Krüger. Tribological performance of sub-100-nm femtosecond laser-induced periodic surface structures on titanium. *Applied Surface Science*, 374:190–196, 2016.
- [177] J. Bonse, S. Höhm, A. Rosenfeld, and J. Krüger. Sub-100-nm laser-induced periodic surface structures upon irradiation of titanium by ti: sapphire femtosecond laser pulses in air. *Applied Physics A*, 110(3):547–551, 2013.
- [178] G. Miyaji, K. Miyazaki, K. Zhang, T. Yoshifuji, and J. Fujita. Mechanism of femtosecond-laser-induced periodic nanostructure formation on crystalline silicon surface immersed in water. *Optics Express*, 20(14):14848–14856, 2012.
- [179] C. Wang, H. Huo, M. Johnson, M. Shen, and E. Mazur. The thresholds of surface nano-/micro-morphology modifications with femtosecond laser pulse irradiations. *Nanotechnology*, 21(7):075304, 2010.
- [180] G. Daminelli, J. Krüger, and W. Kautek. Femtosecond laser interaction with silicon under water confinement. *Thin Solid Films*, 467(1):334–341, 2004.
- [181] J. F. Young, J. S. Preston, H. M. Van Driel, and J. E. Sipe. Laser-induced periodic surface structure. ii. experiments on ge, si, al, and brass. *Physical Review B*, 27(2):1155, 1983.
- [182] M. Huang, F. Zhao, Y. Cheng, N. Xu, and Z. Xu. Origin of laser-induced near-subwavelength ripples: interference between surface plasmons and incident laser. *ACS Nano*, 3(12):4062–4070, 2009.
- [183] M. Rohloff, S. K. Das, S. Höhm, R. Grunwald, A. Rosenfeld, J. Krüger, and J. Bonse. Formation of laser-induced periodic surface structures on fused silica upon multiple cross-polarized double-femtosecond-laser-pulse irradiation sequences. *Journal of Applied Physics*, 110(1):014910, 2011.
- [184] D. Sarma, T. M. Das, and S. Baruah. Bandgap engineering of zno nanostructures through hydrothermal growth. *ADBU Journal of Engineering Technology*, 4, 2016.
- [185] L. J. Sham and M. Schlüter. Density-functional theory of the band gap. *Physical Review B*, 32(6):3883, 1985.

- [186] E. Kemnitz and R. Simon. *Duden Abitur Chemie*. Basiswissen Schule. Dudenverlag, 2004.
- [187] M. E. Sánchez-Vergara, J. C. Alonso-Huitron, A. Rodríguez-Gómez, and J. N. Reider-Burstin. Determination of the optical gap in thin films of amorphous dilithium phthalocyanine using the tauc and cody models. *Molecules*, 17(9):10000–10013, 2012.
- [188] R. Bhatt, I. Bhaumik, S. Ganesamoorthy, A. K. Karnal, M. K. Swami, H. S. Patel, and P. K. Gupta. Urbach tail and bandgap analysis in near stoichiometric linbo3 crystals. *physica status solidi (a)*, 209(1):176–180, 2012.
- [189] A. Monshi, M. R. Foroughi, and M. R. Monshi. Modified scherrer equation to estimate more accurately nano-crystallite size using xrd. *World Journal of Nano Science and Engineering*, 2(03):154, 2012.
- [190] A. L. Patterson. The scherrer formula for x-ray particle size determination. *Physical Review*, 56(10):978, 1939.
- [191] U. Holzwarth and N. Gibson. The scherrer equation versus the ‘debye-scherrer equation’. *Nature Nanotechnology*, 6(9):534–534, 2011.
- [192] S. Klein, S. Petersen, U. Taylor, D. Rath, and S. Barcikowski. Quantitative visualization of colloidal and intracellular gold nanoparticles by confocal microscopy. *Journal of Biomedical Optics*, 15(3):036015–036015, 2010.
- [193] E. J. Guggenheim, A. Khan, J. Pike, L. Chang, I. Lynch, and J. Z. Rappoport. Comparison of confocal and super-resolution reflectance imaging of metal oxide nanoparticles. *PLOS ONE*, 11(10):e0159980, 2016.
- [194] D. Tiedemann, U. Taylor, C. Rehbock, J. Jakobi, S. Klein, W. A. Kues, S. Barcikowski, and D. Rath. Reprotoxicity of gold, silver, and gold–silver alloy nanoparticles on mammalian gametes. *Analyst*, 139(5):931–942, 2014.
- [195] T. K. Jain, M. A. Morales, S. K. Sahoo, D. L. Leslie-Pelecky, and V. Labhasetwar. Iron oxide nanoparticles for sustained delivery of anticancer agents. *Molecular pharmaceutics*, 2(3):194–205, 2005.

- [196] A. Blaeser, D. F. Duarte Campos, M. Köpf, M. Weber, and H. Fischer. Assembly of thin-walled, cell-laden hydrogel conduits inflated with perfluorocarbon. *RSC Advances*, 4(87):46460–46469, 2014.
- [197] A. Blaeser, N. Million, D. F. Duarte Campos, L. Gamrad, M. Köpf, C. Rehbock, M. Nachev, B. Sures, S. Barcikowski, and H. Fischer. Laser-based in situ embedding of metal nanoparticles into bioextruded alginate hydrogel tubes enhances human endothelial cell adhesion. *Nano Research*, 9(11):3407–3427, 2016.
- [198] U. Mirastschijski, C. Kerzel, R. Schnabel, S. Strauss, and K.-H. Breuing. Complete horizontal skin cell resurfacing and delayed vertical cell infiltration into porcine reconstructive tissue matrix compared to bovine collagen matrix and human dermis. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 132(4):861–869, 2013.
- [199] N. Million, V. Coger, P. Wilke, C. Rehbock, P. M. Vogt., A. Pich, and S. Barcikowski. Water-based, surfactant-free biocompatible nanoparticle-microgel-composite biomaterials - ratio design by laser synthesis, processing into fiber pads and impact on cell proliferation. *BioNanoMaterials*, 18(3-4), 2017, doi: 10.1515/bnm-2017-0004.
- [200] C. Albu, A. Dinescu, M. Filipescu, M. Ulmeanu, and M. Zamfirescu. Periodical structures induced by femtosecond laser on metals in air and liquid environments. *Applied Surface Science*, 278:347–351, 2013.
- [201] E. V. Golosov, V. I. Emel'yanov, A. A. Ionin, Y. R. Kolobov, S. I. Kudryashov, A. E. Ligachev, Y. N. Novoselov, L. V. Seleznev, and D. V. Sinitsyn. Femtosecond laser writing of subwave one-dimensional quasiperiodic nanostructures on a titanium surface. *JETP Letters*, 90(2):107–110, 2009.
- [202] J. M. Liu. Simple technique for measurements of pulsed gaussian-beam spot sizes. *Optics Letters*, 7(5):196–198, 1982.
- [203] H. J. Eichler and J. Eichler. *Laser: Bauformen, Strahlführung, Anwendungen*. Springer-Verlag, 6 edition, 2006.
- [204] J. Bonse, S. Baudach, W. Kautek, E. Welsch, and J. Krüger. Femtosecond laser damage of a high reflecting mirror. *Thin Solid Films*, 408(1):297–301, 2002.

- [205] J. Bonse, G. Mann, J. Krüger, M. Marcinkowski, and M. Eberstein. Femtosecond laser-induced removal of silicon nitride layers from doped and textured silicon wafers used in photovoltaics. *Thin Solid Films*, 542:420–425, 2013.
- [206] E. Matthias, M. Reichling, J. Siegel, O. W. Käding, S. Petzoldt, H. Skurk, P. Bizenberger, and E. Neske. The influence of thermal diffusion on laser ablation of metal films. *Applied Physics A: Materials Science & Processing*, 58(2):129–136, 1994.
- [207] D. W. Bäuerle. *Laser processing and chemistry*, volume 3. Springer Science & Business Media, 2013.
- [208] D. P. Shelton. Refractive index measured by laser beam displacement at $\lambda = 1064$ nm for solvents and deuterated solvents. *Applied Optics*, 50(21):4091–4098, 2011.
- [209] J. Lam, J. Lombard, C. Dujardin, G. Ledoux, S. Merabia, and D. Amans. Dynamical study of bubble expansion following laser ablation in liquids. *Applied Physics Letters*, 108(7):074104, 2016.
- [210] M.-R. Kalus, N. Bärsch, R. Streubel, E. Gökce, S. Barcikowski, and B. Gökce. How persistent microbubbles shield nanoparticle productivity in laser synthesis of colloids—quantification of their volume, dwell dynamics, and gas composition. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 19(10):7112–7123, 2017.
- [211] J. V. Obona, V. Ocelík, J. Z. P. Skolski, V. S. Mitko, G. R. B. E. Römer, A. J. Huis, J. Th. M. De Hosson, et al. On the surface topography of ultrashort laser pulse treated steel surfaces. *Applied surface science*, 258(4):1555–1560, 2011.
- [212] D. Zhang, B. Gökce, S. Sommer, R. Streubel, and S. Barcikowski. Debris-free rear-side picosecond laser ablation of thin germanium wafers in water with ethanol. *Applied Surface Science*, 367:222–230, 2016.
- [213] Y. Ishikawa, N. Koshizaki, and A. Pyatenko. Submicrometer-sized spherical iron oxide particles fabricated by pulsed laser melting in liquid. *Electronics and Communications in Japan*, 99(11):37–42, 2016.
- [214] G. Marzun, H. Bönnemann, C. Lehmann, B. Spliethoff, C. Weidenthaler, and S. Barcikowski. Role of dissolved and molecular oxygen on cu and ptcu alloy particle structure during laser ablation synthesis in liquids. *ChemPhysChem*, 2017.

- [215] N. Million. In-situ-konjugation von lasergenerierten nanopartikeln mit mikrogelbildenden vorläufersubstanzen. Master's thesis, Universität Duisburg-Essen, Fakultät Chemie, 2012.
- [216] A. Couairon and A. Mysyrowicz. Femtosecond filamentation in transparent media. *Physics Reports*, 441(2):47–189, 2007.
- [217] J. H. Marburger. Self-focusing: theory. *Progress in Quantum Electronics*, 4:35–110, 1975.
- [218] P P. Ho and R. R. Alfano. Optical kerr effect in liquids. *Physical Review A*, 20(5):2170, 1979.
- [219] M. J. Weber, D. Milam, and W. L. Smith. Nonlinear refractive index of glasses and crystals. *Optical Engineering*, 17(5):175463–175463, 1978.
- [220] R. W. Boyd and G. L. Fischer. Nonlinear optical materials. *Encyclopedia of Materials: Science and Technology*, pages 6237–6244, 2001.
- [221] J. Kestin, M. Sokolov, and W. A. Wakeham. Viscosity of liquid water in the range- 8 c to 150 c. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 7(3):941–948, 1978.
- [222] M. J. Weber, editor. *Handbook of Optical Materials*. Laser and Optical Science and Technology Series. CRC Press, 2003.
- [223] W. M. Haynes. *CRC Handbook of Chemistry and Physics*. CRC press, 93 edition, 2012-2013.
- [224] D. D. van't Zand, P. Nachev, R. Rosenfeld, P. Wagener, A. Pich, D. Klee, and S. Barcikowski. Nanocomposite fibre fabrication via in situ monomer grafting and bonding on laser-generated nanoparticles. *Journal of Laser Micro/Nanoengineering*, 7(1):21–27, 2012.
- [225] C. L. Sajti, S. Petersen, A. Menéndez-Manjón, and S. Barcikowski. In-situ bioconjugation in stationary media and in liquid flow by femtosecond laser ablation. *Applied Physics A*, 101(2):259–264, 2010.
- [226] C. F. Dowding and J. Lawrence. Excimer laser machining of bisphenol a polycarbonate under closed immersion filtered water with varying flow velocities and

the effects on the etch rate. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part B: Journal of Engineering Manufacture*, 224(10):1469–1480, 2010.

[227] A. Al-Kattan, Y. V. Ryabchikov, T. Baati, V. Chirvony, J. F. Sánchez-Royo, M. Sentis, D. Braguer, V. Y. Timoshenko, M. Estève, and A. V. Kabashin. Ultrapure laser-synthesized si nanoparticles with variable oxidation states for biomedical applications. *Journal of Materials Chemistry B*, 4(48):7852–7858, 2016.

[228] P. Blandin, K. A. Maximova, M. B. Gongalsky, J. F. Sanchez-Royo, V. S. Chirvony, M. Sentis, V. Y. Timoshenko, and A. V. Kabashin. Femtosecond laser fragmentation from water-dispersed microcolloids: toward fast controllable growth of ultrapure si-based nanomaterials for biological applications. *Journal of Materials Chemistry B*, 1(19):2489–2495, 2013.

[229] C. T. Culbertson, S. C. Jacobson, and J. M. Ramsey. Diffusion coefficient measurements in microfluidic devices. *Talanta*, 56(2):365–373, 2002.

[230] M. A. Islam. Einstein–smoluchowski diffusion equation: a discussion. *Physica Scripta*, 70(2-3):120, 2004.

[231] C. He, T. Sasaki, H. Usui, Y. Shimizu, and N. Koshizaki. Fabrication of zno nanoparticles by pulsed laser ablation in aqueous media and ph-dependent particle size: an approach to study the mechanism of enhanced green photoluminescence. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 191(1):66–73, 2007.

[232] W. Zhang, Y. Yao, N. Sullivan, and Y. Chen. Modeling the primary size effects of citrate-coated silver nanoparticles on their ion release kinetics. *Environmental Science & Technology*, 45(10):4422–4428, 2011.

[233] T. M. D. Dang, T. T. T. Le, E. Fribourg-Blanc, and M. C. Dang. Synthesis and optical properties of copper nanoparticles prepared by a chemical reduction method. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 2(1):015009, 2011.

[234] R. M. Tilaki, S. M. Mahdavi, et al. Size, composition and optical properties of copper nanoparticles prepared by laser ablation in liquids. *Applied Physics A*, 88(2):415–419, 2007.

- [235] M. Yin, C.-K. Wu, Y. Lou, C. Burda, J. T. Koberstein, Y. Zhu, and S. O'Brien. Copper oxide nanocrystals. *Journal of the American Chemical Society*, 127(26):9506–9511, 2005.
- [236] M. Salavati-Niasari and F. Davar. Synthesis of copper and copper (i) oxide nanoparticles by thermal decomposition of a new precursor. *Materials Letters*, 63(3):441–443, 2009.
- [237] A. Nath and A. Khare. Size induced structural modifications in copper oxide nanoparticles synthesized via laser ablation in liquids. *Journal of Applied Physics*, 110(4):043111, 2011.
- [238] M. Muniz-Miranda, C. Gellini, and E. Giorgetti. Surface-enhanced raman scattering from copper nanoparticles obtained by laser ablation. *The Journal of Physical Chemistry C*, 115(12):5021–5027, 2011.
- [239] P. V. Kazakevich, A. V. Simakin, V. V. Voronov, and G. A. Shafeev. Laser induced synthesis of nanoparticles in liquids. *Applied surface science*, 252(13):4373–4380, 2006.
- [240] W. Y. Ching, Y. Xu, and K. W. Wong. Ground-state and optical properties of Cu_2O and CuO crystals. *Physical Review B*, 40(11):7684, 1989.
- [241] F. P. Koffyberg and F. A. Benko. A photoelectrochemical determination of the position of the conduction and valence band edges of p-type CuO . *Journal of Applied Physics*, 53(2):1173–1177, 1982.
- [242] J. Ghijsen, L. H. Tjeng, J. Van Elp, H. Eskes, J. Westerink, G. A. Sawatzky, and M. T. Czyzyk. Electronic structure of Cu_2O and CuO . *Physical Review B*, 38(16):11322, 1988.
- [243] K. M. Reddy, S. V. Manorama, and A. R. Reddy. Bandgap studies on anatase titanium dioxide nanoparticles. *Materials Chemistry and Physics*, 78(1):239–245, 2003.
- [244] L. E. Brus. Electron–electron and electron-hole interactions in small semiconductor crystallites: The size dependence of the lowest excited electronic state. *The Journal of Chemical Physics*, 80(9):4403–4409, 1984.

- [245] Y. Kayanuma. Quantum-size effects of interacting electrons and holes in semiconductor microcrystals with spherical shape. *Physical Review B*, 38(14):9797, 1988.
- [246] Y. Wang and N. Herron. Nanometer-sized semiconductor clusters: materials synthesis, quantum size effects, and photophysical properties. *Journal of Physical Chemistry; (USA)*, 95(2), 1991.
- [247] D. P. Macwan, P. N. Dave, and S. Chaturvedi. A review on nano-tio₂ sol–gel type syntheses and its applications. *Journal of Materials Science*, 46(11):3669–3686, 2011.
- [248] C.-N. Huang, J.-S. Bow, Y. Zheng, S.-Y. Chen, N. Ho, and P. Shen. Nonstoichiometric titanium oxides via pulsed laser ablation in water. *Nanoscale Research Letters*, 5:972–985, 2010.
- [249] R. J. Nussbaumer, W. R. Caseri, P. Smith, and T. Tervoort. Polymer-tio₂ nanocomposites: A route towards visually transparent broadband uv filters and high refractive index materials. *Macromolecular Materials and Engineering*, 288(1):44–49, 2003.
- [250] F. Barreca, N. Acacia, E. Barletta, D. Spadaro, G. Currò, and F. Neri. Small size tio₂ nanoparticles prepared by laser ablation in water. *Applied Surface Science*, 256(21):6408–6412, 2010.
- [251] C. Cheng, A. Amini, C. Zhu, Z. Xu, H. Song, and N. Wang. Enhanced photocatalytic performance of tio₂-zno hybrid nanostructures. *Scientific Reports*, 4, 2014.
- [252] J.-G. Li, T. Ishigaki, and X. Sun. Anatase, brookite, and rutile nanocrystals via redox reactions under mild hydrothermal conditions: phase-selective synthesis and physicochemical properties. *The Journal of Physical Chemistry C*, 111(13):4969–4976, 2007.
- [253] K. Suttiponparnit, J. Jiang, M. Sahu, S. Suvachittanont, T. Charinpanitkul, and P. Biswas. Role of surface area, primary particle size, and crystal phase on titanium dioxide nanoparticle dispersion properties. *Nanoscale Research Letters*, 6(1):1, 2010.
- [254] R. D. Shannon and J. A. Pask. Topotaxy in the anatase-rutile transformation. Technical report, Lawrence Radiation Lab., Univ. of California, Berkeley, 1964.

- [255] Y. Zhao, C. Li, X. Liu, F. Gu, H. Jiang, W. Shao, L. Zhang, and Y. He. Synthesis and optical properties of tio 2 nanoparticles. *Materials Letters*, 61(1):79–83, 2007.
- [256] A. J. Rulison, P. F. Miquel, and J. L. Katz. Titania and silica powders produced in a counterflow diffusion flame. *Journal of Materials Research*, 11(12):3083–3089, 1996.
- [257] Y. Wang, Y. Qin, G. Li, Z. Cui, and Z. Zhang. One-step synthesis and optical properties of blue titanium suboxide nanoparticles. *Journal of Crystal Growth*, 282(3):402–406, 2005.
- [258] A. A. Ruth and J. A. Young. Generation of cdse and cdte nanoparticles by laser ablation in liquids. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 279(1):121–127, 2006.
- [259] R. C. Mundargi, V. Rangaswamy, and T. M. Aminabhavi. Poly (n-vinylcaprolactam-co-methacrylic acid) hydrogel microparticles for oral insulin delivery. *Journal of Microencapsulation*, 28(5):384–394, 2011.
- [260] P. Wagener, S. Faramarzi, A. Schwenke, R. Rosenfeld, and S. Barcikowski. Photoluminescent zinc oxide polymer nanocomposites fabricated using picosecond laser ablation in an organic solvent. *Applied Surface Science*, 257(16):7231–7237, 2011.
- [261] R. Brayner, S. A. Dahoumane, C. Yepremian, C. Djediat, M. Meyer, A. Coute, and F. Fievet. Zno nanoparticles: synthesis, characterization, and ecotoxicological studies. *Langmuir*, 26(9):6522–6528, 2010.
- [262] K. Ogawa, T. Vogt, M. Ullmann, S. Johnson, and S. K. Friedlander. Elastic properties of nanoparticle chain aggregates of tio₂, al₂o₃, and fe₂o₃ generated by laser ablation. *Journal of Applied Physics*, 87(1):63–73, 2000.
- [263] M.-T. Zhu, B. Wang, Y. Wang, L. Yuan, H.-J. Wang, M. Wang, H. Ouyang, Z.-F. Chai, W.-Y. Feng, and Y.-L. Zhao. Endothelial dysfunction and inflammation induced by iron oxide nanoparticle exposure: Risk factors for early atherosclerosis. *Toxicology Letters*, 203(2):162–171, 2011.
- [264] M. Keerl, J. S. Pedersen, and W. Richtering. Temperature sensitive copolymer microgels with nanophase separated structure. *Journal of the American Chemical Society*, 131(8):3093–3097, 2009.

- [265] D. Kehren and A. Pich. Fabrication and characterisation of microgel/polymer composite microfibres. *Macromolecular Materials and Engineering*, 298(12):1282–1293, 2013.
- [266] P. Wilke, V. Coger, M. Nachev, S. Schachschal, N. Million, S. Barcikowski, B. Sures, K. Reimers, P. M. Vogt, and A. Pich. Biocompatible microgel-modified electrospun fibers for zinc ion release. *Polymer*, 61:163–173, 2015.
- [267] C. Damm. Silver ion release from polymethyl methacrylate silver nanocomposites. *Polymers & Polymer Composites*, 13(7):649–656, 2005.
- [268] E. Riedel and C. Janiak. *Anorganische chemie*. Walter de Gruyter GmbH & Co KG, 2007.
- [269] V. Coger, N. Million, P. Wilke, A. Pich, P. M. Vogt, K. Reimers, and S. Barcikowski. *Optically Induced Nanostructures: Biomedical and Technical Applications*, chapter II.3, pages 199–216. Walter de Gruyter GmbH & Co KG, 2015.
- [270] A. Yamamoto, R. Honma, and M. Sumita. Cytotoxicity evaluation of 43 metal salts using murine fibroblasts and osteoblastic cells. *Journal of Biomedical Materials Research*, 39(2):331–340, 1998.
- [271] J. C. Wataha, C. T. Hanks, and Z. Sun. Effect of cell line on in vitro metal ion cytotoxicity. *Dental Materials*, 10(3):156–161, 1994.
- [272] H. Kappus and Ch. Reinhold. Heavy metal-induced cytotoxicity to cultured human epidermal keratinocytes and effects of antioxidants. *Toxicology Letters*, 71(2):105–109, 1994.
- [273] G. Grass, C. Rensing, and M. Solioz. Metallic copper as an antimicrobial surface. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(5):1541–1547, 2011.
- [274] Q. L. Feng, J. Wu, G. Q. Chen, F. Z. Cui, T. N. Kim, J. O. Kim, et al. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on escherichia coli and staphylococcus aureus. *Journal of Biomedical Materials Research*, 52(4):662–668, 2000.
- [275] Dorm-3: Fish protein certified reference material for trace metals. *National Research Council Canada*, Februar 2007.

- [276] S. A. Wise and R. L. Watters. Certificate of analysis: Standard reference material (r) 1566b. *National Institute of Standards & Technology, Gaithersburg*, 07.02.2011.
- [277] L. Zhao, H. Wang, K. Huo, L. Cui, W. Zhang, H. Ni, Y. Zhang, Z. Wu, and P. K. Chu. Antibacterial nano-structured titania coating incorporated with silver nanoparticles. *Biomaterials*, 32(24):5706–5716, 2011.
- [278] A. Blaeser, D. F. Duarte Campos, U. Puster, W. Richtering, M. M. Stevens, and H. Fischer. Controlling shear stress in 3d bioprinting is a key factor to balance printing resolution and stem cell integrity. *Advanced Healthcare Materials*, 2015.
- [279] M. W. Hentze, M. U. Muckenthaler, and N. C. Andrews. Balancing acts: molecular control of mammalian iron metabolism. *Cell*, 117(3):285–297, 2004.
- [280] R. D. Klausner, T. A. Rouault, and J. B. Harford. Regulating the fate of mrna: the control of cellular iron metabolism. *Cell*, 72(1):19–28, 1993.
- [281] S. Santra, C. Kaittanis, J. Grimm, and J. M. Perez. Drug/dye-loaded, multifunctional iron oxide nanoparticles for combined targeted cancer therapy and dual optical/magnetic resonance imaging. *Small*, 5(16):1862–1868, 2009.
- [282] S.-H. Hsu, C.-M. Tang, and H.-J. Tseng. Gold nanoparticles induce surface morphological transformation in polyurethane and affect the cellular response. *Biomacromolecules*, 9(1):241–248, 2007.
- [283] H.-S. Hung, C.-C. Wu, S. Chien, and S.-H. Hsu. The behavior of endothelial cells on polyurethane nanocomposites and the associated signaling pathways. *Biomaterials*, 30(8):1502–1511, 2009.
- [284] S. Barcikowski, A. Hahn, M. Guggenheim, K. Reimers, and A. Ostendorf. Biocompatibility of nanoactuators: stem cell growth on laser-generated nickel–titanium shape memory alloy nanoparticles. *Journal of Nanoparticle Research*, 12(5):1733–1742, 2010.
- [285] P. L. Apopa, Y. Qian, R. Shao, N. L. Guo, D. Schwegler-Berry, M. Pacurari, D. Porter, X. Shi, V. Vallyathan, V. Castranova, et al. Iron oxide nanoparticles induce human microvascular endothelial cell permeability through reactive oxygen species production and microtubule remodeling. *Particle and Fibre Toxicology*, 6(1):1, 2009.

- [286] H.-Y. Gu, Z. Chen, R.-X. Sa, S.-S. Yuan, H.-Y. Chen, Y.-T. Ding, and A.-M. Yu. The immobilization of hepatocytes on 24nm-sized gold colloid for enhanced hepatocytes proliferation. *Biomaterials*, 25(17):3445–3451, 2004.
- [287] S. Strauß, A. Neumeister, S. Barcikowski, D. Kracht, J. W. Kuhbier, C. Radtke, K. Reimers, and P. M. Vogt. Adhesion, vitality and osteogenic differentiation capacity of adipose derived stem cells seeded on nitinol nanoparticle coatings. *PLOS ONE*, 8(1):e53309, 2013.
- [288] K. Li and M. Schneider. Quantitative evaluation and visualization of size effect on cellular uptake of gold nanoparticles by multiphoton imaging-uv/vis spectroscopic analysis. *Journal of Biomedical Optics*, 19(10):101505–101505, 2014.
- [289] I. Machida-Sano, Y. Matsuda, and H. Namiki. In vitro adhesion of human dermal fibroblasts on iron cross-linked alginate films. *Biomedical Materials*, 4(2):025008, 2009.
- [290] R. D. Horniblow, M. Dowle, T. H. Iqbal, G. O. Latunde-Dada, R. E. Palmer, Z. Pikramenou, and C. Tselepis. Alginate-iron speciation and its effect on in vitro cellular iron metabolism. *PLOS ONE*, 10(9):e0138240, 2015.
- [291] E. M. Ahmed and F. S. Aggor. Swelling kinetic study and characterization of crosslinked hydrogels containing silver nanoparticles. *Journal of Applied Polymer Science*, 117(4):2168–2174, 2010.
- [292] D. A. Calderwood, S. J. Shattil, and M. H. Ginsberg. Integrins and actin filaments: reciprocal regulation of cell adhesion and signaling. *Journal of Biological Chemistry*, 275(30):22607–22610, 2000.
- [293] T. D. Pollard and G. G. Borisy. Cellular motility driven by assembly and disassembly of actin filaments. *Cell*, 112(4):453–465, 2003.
- [294] P. Defilippi, C. Olivo, M. Venturino, L. Dolce, L. Silengo, and G. Tarone. Actin cytoskeleton organization in response to integrin-mediated adhesion. *Microscopy Research and Technique*, 47(1):67–78, 1999.
- [295] E. Casals, T. Pfaller, A. Duschl, G. J. Oostingh, and V. Puentes. Time evolution of the nanoparticle protein corona. *ACS Nano*, 4(7):3623–3632, 2010.

- [296] M. Lundqvist, J. Stigler, T. Cedervall, T. Berggard, M. B. Flanagan, I. Lynch, G. Elia, and K. Dawson. The evolution of the protein corona around nanoparticles: a test study. *ACS Nano*, 5(9):7503–7509, 2011.
- [297] D. Pozzi, G. Caracciolo, L. Digiaco, V. Colapicchioni, S. Palchetti, A. L. Capriotti, C. Cavaliere, R. Z. Chiozzi, A. Puglisi, and A. Laganà. The biomolecular corona of nanoparticles in circulating biological media. *Nanoscale*, 7(33):13958–13966, 2015.
- [298] M. Safi, J. Courtois, M. Seigneuret, H. Conjeaud, and J.-F. Berret. The effects of aggregation and protein corona on the cellular internalization of iron oxide nanoparticles. *Biomaterials*, 32(35):9353–9363, 2011.
- [299] S. A. A. X. Michel, M. L. W. Knetsch, and L. H. Koole. Adsorption of albumin on flax fibers increases endothelial cell adhesion and blood compatibility in vitro. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 25(7):698–712, 2014.
- [300] A. Schwab. Function and spatial distribution of ion channels and transporters in cell migration. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 280(5):F739–F747, 2001.
- [301] J. Li and F. Lin. Microfluidic devices for studying chemotaxis and electrotaxis. *Trends in Cell Biology*, 21(8):489–497, 2011.
- [302] I. Machida-Sano, M. Hirakawa, H. Matsumoto, M. Kamada, S. Ogawa, N. Satoh, and H. Namiki. Surface characteristics determining the cell compatibility of ionically cross-linked alginate gels. *Biomedical Materials*, 9(2):025007, 2014.
- [303] T. Reya, S. J. Morrison, M. F. Clarke, and I. L. Weissman. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature*, 414(6859):105–111, 2001.
- [304] M. Kondo, A. J. Wagers, M. G. Manz, S. S. Prohaska, D. C. Scherer, G. F. Beilhack, J. A. Shizuru, and I. L. Weissman. Biology of hematopoietic stem cells and progenitors: implications for clinical application. *Annual Review of Immunology*, 21(1):759–806, 2003.
- [305] S. J. Szilvassy. The biology of hematopoietic stem cells. *Archives of Medical Research*, 34(6):446–460, 2003.

- [306] J. L. Spivak. The anaemia of cancer: death by a thousand cuts. *Nature Reviews Cancer*, 5(7):543–555, 2005.
- [307] N. Kawasaki, K. Morimoto, T. Tanimoto, and T. Hayakawa. Control of hemoglobin synthesis in erythroid differentiating k562 cells i. role of iron in erythroid cell heme synthesis. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 328(2):289–294, 1996.
- [308] L. Bao, W. Low, J. Jiang, and J. Y. Ying. Colloidal synthesis of magnetic nanorods with tunable aspect ratios. *Journal of Materials Chemistry*, 22(15):7117–7120, 2012.
- [309] K.-S. Lin, Z.-P. Wang, S. Chowdhury, and A. K. Adhikari. Preparation and characterization of aligned iron nanorod using aqueous chemical method. *Thin Solid Films*, 517(17):5192–5196, 2009.
- [310] V. Amendola, P. Riello, S. Polizzi, S. Fiameni, C. Innocenti, C. Sangregorio, and M. Meneghetti. Magnetic iron oxide nanoparticles with tunable size and free surface obtained via a “green” approach based on laser irradiation in water. *Journal of Materials Chemistry*, 21(46):18665–18673, 2011.
- [311] V. Amendola, M. Meneghetti, G. Granozzi, S. Agnoli, S. Polizzi, P. Riello, A. Boscaini, C. Anselmi, G. Fracasso, M. Colombatti, et al. Top-down synthesis of multifunctional iron oxide nanoparticles for macrophage labelling and manipulation. *Journal of Materials Chemistry*, 21(11):3803–3813, 2011.
- [312] P. Liu, W. Cai, and H. Zeng. Fabrication and size-dependent optical properties of feo nanoparticles induced by laser ablation in a liquid medium. *The Journal of Physical Chemistry C*, 112(9):3261–3266, 2008.
- [313] V. Amendola, P. Riello, and M. Meneghetti. Magnetic nanoparticles of iron carbide, iron oxide, iron@ iron oxide, and metal iron synthesized by laser ablation in organic solvents. *The Journal of Physical Chemistry C*, 115(12):5140–5146, 2010.
- [314] K. Taoka, K. Kumano, F. Nakamura, M. Hosoi, S. Goyama, Y. Imai, A. Hangaishi, and M. Kurokawa. The effect of iron overload and chelation on erythroid differentiation. *International Journal of Hematology*, 95(2):149–159, 2012.
- [315] C. Byrnes, Y. T. Lee, E. R. Meier, A. Rabel, D. B. Sacks, and J. L. Miller. Iron dose-dependent differentiation and enucleation of human erythroblasts in serum-free medium. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 2013.

8.2 Abkürzungsverzeichnis

Tabelle 15: Abkürzungsverzeichnis.

AAEM	(2-Acetoacetoxy)ethyl methacrylat
ABSI	Abbreviated Burn Severity Index
Ag	Silber
AMPA	2,2'-Azobis(2-methylpropionamidin) dihydrochlorid
ATP	Adenosintriphosphat
Au	Gold
BFU-e	burst-forming unit erythroid
BIS	N,N'-Methylenbis(acrylamid)
CaCl ₂	Calciumchlorid
CFU-e	colony-forming unit erythroid
Cu	Kupfer
CuO	Kupfer(II)-oxid
Cu ₂ O	Kupfer(I)-oxid
DIC	differential interference contrast
DLS	dynamische Lichtstreuung
d _s	Spiraldurchmesser
EDX	Energiedispersive Röntgenspektroskopie
f	Brennweite
FB	Fibroblasten
FBS	Fetales Kälberserum (engl.: Foetal Bovine Serum)
FESEM	Feldemissions-Rasterelektronenmikroskopie
GaP	Galliumphosphit
h-KC	humane Keratinozyten (engl.: human keratinocytes)
hd-FB	humane dermale Fibroblasten (engl.: human dermal fibroblasts)
HSFL	high-spatial frequency LIPSS
HUVEC	humane Endothelzelle (engl.: human umbilical vein endothelial cell)
ICP-MS	Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (engl.: inductively coupled plasma mass-spectrometry)
ICP-OES	optische Emissionsspektrometrie mittels induktiv gekoppelten Plasma (engl.: inductively coupled plasma optical emission spectrometry)
IPD	Interpartikelabstand (engl.: interparticle distance)
IR-Spektroskopie	Infrarotspektroskopie
LCST	Lower critical solution temperatur (kritische Lösungstemperatur)
LIPSS	laser-induced periodic surface structures (Laserinduzierte periodische Oberflächenstrukturen)
LL	Flüssigkeitshöhe (engl.: liquid layer)
LSFL	low-spatial frequency LIPSS
Mg	Magnesium
P	Leistung
PBS	phosphatgepufferter Salzlösung (engl.: phosphate buffer saline)
PCL	Poly-ε-Caprolacton
PDI	Polydispersitätsindex
PEG-DA	Poly(ethylenglykol) diacrylat

PEG-MA	Poly(ethylenglykol) methacrylat
PFC	Perfluorocarbon
PIPES	Piperazin-N,N'-bis(2-ethansulfonsäure)
PMMA	Poly(methyl methacrylat)
PVCL	Poly-N-Vinylcaprolactam
PVP	Polyvinylpyrrolidon
REM	Rasterelektronenmikroskopie
RR	Repetitionsrate
RT	Raumtemperatur
SPP	Oberflächenplasmon-Polaritonen (engl.: surface plasmon polaritons)
τ	Lebensdauer der Kavitationsblase
TCPS	Polystyrol (engl.: tissue culture polystyrene)
TEM	Transmissionselektronenspektroskopie
TGA	thermogravimetrische Analyse
THF	Tetrahydrofuran
Ti	Titan
TiO	Titan(II)-oxid
TiO ₂	Titandioxid
TOC	engl. Total organic carbon
TPU	thermoplastisches Polyurethan
VCL	N-Vinylcaprolactam
VPTT	Volumen-Phasenübergangs-Temperatur (engl.: volume phase transition temperature)
XPS	Röntgenphotoelektronenspektroskopie
XRD	X-ray diffraction (Röntgenbeugung)
Zn	Zink
ZnO	Zinkoxid
Δz	Fokusverschiebung relativ zum Fokus in Luft

Tabelle 16: Abkürzungsverzeichnis für Einheiten.

fs	Femtosekunde
ps	Pikosekunde
ns	Nanosekunde
s	Sekunde
min	Minuten
h	Stunden
μ l	Mikroliter
ml	Milliliter
l	Liter
μ J	Mikrojoule
mJ	Millijoule
J	Joule
μ g	Mikrogramm
mg	Milligramm
g	Gramm
nm	Nanometer
mm	Millimeter
cm	Zentimeter
m	Meter

μM	Mikromolar
mM	Millimolar
M	Molar
kHz	Kilohertz
W	Watt
Upm	Umdrehungen pro Minute

Tabelle 17: Abkürzungsverzeichnis für Formelvariablen.

M_S	freigesetzte Substanzmenge nach unendlicher Zeit
M_t	freigesetzte Substanzmenge zum Zeitpunkt t
M_∞	gesamt enthaltene Menge Substanz
t	Zeit
k_0	Konstante der Auflösungsgeschwindigkeit
k_1	Freisetzungskonstante 1. Ordnung
k_{KP}	Freisetzungskonstante (Korsmeyer-Peppas Modell)
φ_{KP}	Diffusionskoeffizient (Korsmeyer-Peppas Modell)
φ_H	Diffusionskoeffizient (Higuchi Modell)
C	Substanzkonzentration zu Beginn
C_S	Substanzlöslichkeit
δ	Porosität der Matrix
ξ	Windung der Matrix
l	Dicke des Polymerfilms
k_H	Higuchi-Freisetzungskonstante
λ	Wellenlänge
n	Brechungsindex
n_0	linearer Brechungsindex
n_2	nicht-linearer Brechungsindex
I	Intensität
h	Planck-Konstante
α	Absorptionskoeffizient
E_g	Bandlücke
A	Proportionalitätsfaktor
ν	Vibrationsfrequenz
G	Kristallgröße des Pulvers
β	Halbwertsbreite
θ	Beugungswinkel
k	Konstante
w_0	Strahlradius
f_{Rep}	Repetitionsrate
E_{Puls}	Pulsenergie
D_{th}^2	quadrierte Linienbreite
w_P	einfallender Strahlradius
K	Strahlqualität
M^2	Beugungsmaßzahl
F_0	Peakfluenz
F_{th}	Schwellfluenz
v	Geschwindigkeit
S	Temperaturleitfähigkeit
τ	Laserpulsdauer

L_{th}	thermische Diffusionslänge
Λ_{HSFL}	Periodizität HSFL
Λ_{LSFL}	Periodizität LSFL
$T_{p,q}$	optische Transmission durch Grenzfläche zwischen zwei Medien
$R_{p,q}$	Reflektivität
\tilde{n}_p, \tilde{n}_q	komplexe Brechungsindizes der Medien p und q
F_{abs}	absorbierte Fluenz
T_{Zelle}	Transmission
N_{eff}	effektiven Anzahl an Pulsen pro Strahldurchmesser
n_d	quadrierter Brechungsindex des Mediums
n_m	quadrierter Brechungsindex des Metalls
f_{crit}	kritische Repetitionsrate
t_{crit}	Lebensdauer der Kavitationsblase
ε_1	Einfallswinkel
ε_2	Brechungswinkel
x	Teilchenbewegung
t_v	Verweilzeit

8.3 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Darstellung der Zusammenhänge der behandelten Themenbereiche....	2
Abbildung 2: Gegenüberstellung von Ursachen und Unfallzusammenhängen von Brandverletzungen 2014. Erstellt nach [7].	3
Abbildung 3: Darstellung der drei klassischen Wundheilungsstadien: Entzündungsphase (a), Re-Epithelialisierung (b) und Remodellierung (c). Erstellt nach [43].	5
Abbildung 4: Einsatzmöglichkeiten von Scaffolds zur Gewebeneubildung. Erstellt nach [68].	8
Abbildung 5: Schematische Darstellung der Reaktion zum VCL/AAEM-Copolymer. Erstellt nach [82].	11
Abbildung 6: Monomereinheiten des Alginats (a, b) und eine mögliche Monomerabfolge im Alginat (c). Erstellt nach [88].	12
Abbildung 7: Darstellung der Nanopartikel-Mikrogel Strukturen: oben: Mikrogel mit Kern-Hülle Struktur, Mitte: Mikrogel gefüllt mit Nanopartikeln, unten: Mikrogel mit Nanopartikeln auf der Oberfläche des Gels. Erstellt nach [78].	14
Abbildung 8: Schematische Darstellung des Mechanismus der Ionenfreisetzung am Beispiel eines Nanopartikels in einer Silikonmatrix. Erstellt nach [111].	15
Abbildung 9: Einfluss von Materialkombinationen auf die Silber-Ionenfreisetzung. Die Beladung mit Nanopartikeln beträgt jeweils 0,5 wt% für jedes Element. Erstellt nach [16].	19
Abbildung 10: Schematische Darstellung der Definition des therapeutischen Fensters. Erstellt nach [132].	20
Abbildung 11: Wirkstoffkonzentration am Wirkungsort nach der Gabe über konventionelle Injektionen (dünne, rote Linie) und über konstante Freisetzungssysteme (dicke, schwarze Linie). Erstellt nach [131].	21
Abbildung 12: Schematische Darstellung der Nanokompositherstellung mittels dem Laserabtrag in organischen Lösungsmitteln (a), Polymerlösungen (a) und Monomerlösungen (b).	22
Abbildung 13: Oben: Röntgenstrahlungs-Transmission bei einer Scanhöhe von 0,17 mm. Unten: Darstellung der Partikelverteilung beim Laserabtrag zu definierten Zeitpunkten. Erstellt nach [143].	25
Abbildung 14: Linsenposition für die explosive Verdampfung von Wasser, Aceton und Ethanol in Abhängigkeit von der Flüssigkeitshöhe (Brennweite = 80 mm) (a).	

Berechnete optimale Linsenposition für verschiedene Brennweiten und Flüssigkeitsschichten, um eine explosive Verdampfung zu verhindern (b). Die farbigen, gestrichelten Linien markieren die minimale Flüssigkeitshöhe für einen maximalen Abtrag (200 $\mu\text{J}/\text{Puls}$). Erstellt nach [150].	27
Abbildung 15: REM-Aufnahmen von HSFL (links) und LSFL (rechts) auf (100) Galliumphosphit (GaP) nach der Bestrahlung mit 800 nm (a), 1300 nm (b) und 2100 nm (c) Femtosekundenpulsen. [171]	30
Abbildung 16: Strukturierung der in dieser Arbeit enthaltenen Arbeitsbereiche zur Verfolgung der Zielsetzung.	33
Abbildung 17: Aufbau der verwendeten Batch-Kammer.	46
Abbildung 18: Aufbau der verwendeten Durchflussskammer.	46
Abbildung 19: Aufbau der temperierbaren Durchflussskammer.	47
Abbildung 20: Aufbau des Laserabtrags.	47
Abbildung 21: Experimentelles Schema der Alginateextrusion. Das Schema wurde erstellt und zur Verfügung gestellt von M.Sc. Andreas Blaeser. [197] ¹³	52
Abbildung 22: Probenfotos der getrockneten Rattenhaut.	57
Abbildung 23: Präparation von Nanopartikel-beladenen Alginateplättchen. Für 2D-Experimente werden Zellen auf der Oberfläche der Plättchen (1,5 % m/v) kultiviert, für 3D-Experimente werden Zellen in den Alginateplättchen (0,75 % m/v) eingekapselt. [197] Dieses Schema wurde erstellt und zur Verfügung gestellt von M.Sc. Andreas Blaeser.	62
Abbildung 24: Bestimmung des Strahlradius (a) und der Schwellfluenz (b).	67
Abbildung 25: Rasterelektronenmikroskopbilder von Titanoberflächen nach der flächenscannenden Pikosekunden-Laserbestrahlung in Luft. Der linke Teil zeigt die Ergebnisse bei der Peakfluenz $F_0 = 0,35 \text{ J}/\text{cm}^2$, der rechte Teil zeigt die Ergebnisse bei der Peakfluenz $F_0 = 0,42 \text{ J}/\text{cm}^2$, jeweils bei Geschwindigkeiten von 0,08 m/s, 0,16 m/s und 0,40 m/s, 100 kHz und einem Linienabstand von 10 μm . Der gelbe Pfeil in d zeigt die Polarisationsrichtung des Laserstrahls.	68
Abbildung 26: Rasterelektronenmikroskopbilder von Titanoberflächen nach der flächenscannenden Pikosekunden-Laserbestrahlung in Wasser. Der obere Teil zeigt die Ergebnisse bei der Peakfluenz $F_0 = 0,35 \text{ J}/\text{cm}^2$, der mittlere Teil die Ergebnisse bei der Peakfluenz $F_0 = 0,42 \text{ J}/\text{cm}^2$ und der untere Teil die Ergebnisse bei der Peakfluenz $F_0 = 0,48 \text{ J}/\text{cm}^2$, jeweils bei Geschwindigkeiten von 0,08 m/s, 0,16 m/s und 0,40 m/s,	

100 kHz und einem Linienabstand von 10 μm . Der gelbe Pfeil in f zeigt die Polarisationsrichtung des Laserstrahls.	70
Abbildung 27: Schema der möglichen Interaktionen eines Laserpulses mit der Titanoberfläche (a) und eines zweiten Laserpulses mit der Kavitationsblase des ersten Pulses (b) bzw. mit permanenten Blasen (c-e).	75
Abbildung 28: Rasterelektronenmikroskopbild einer Titanoberfläche nach der flächenscannenden Pikosekunden-Laserbestrahlung in Wasser ($F_0 = 0,36 \text{ J/cm}^2$, $v = 0,08 \text{ m/s}$, $f_{\text{Rep}} = 100 \text{ kHz}$, $\Delta x = 10 \mu\text{m}$). Die Pfeile markieren einige Bereiche, wo die Brechungseffekte an den Gasblasen auf der Probenoberfläche abgebildet sind und die dynamische Bewegung der (wachsenden) Blase während des Scanprozesses belegen.	76
Abbildung 29: Rasterelektronenmikroskopbilder von Titanoberflächen nach der flächenscannenden Pikosekunden-Laserbestrahlung in Wasser (a und b), Methanol (c und d) und THF (e und f) bei einer Peakfluenz $F_0 = 1,37 \text{ J/cm}^2$ und einer Geschwindigkeit von 0,08 m/s, 100 kHz und einem Linienabstand von 10 μm . Der gelbe Pfeil in d zeigt die Polarisationsrichtung des Laserstrahls.	77
Abbildung 30: LIPSS Perioden (LSFL in a und HSFL in b) auf Titanoberflächen als Funktion des Brechungsindizes des umgebenden Mediums (Luft bzw. Flüssigkeiten).	78
Abbildung 31: LIPSS Perioden (LSFL in a und HSFL in b) auf Titanoberflächen als Funktion der effektiven Anzahl an Pulsen pro Strahldurchmesser.	79
Abbildung 32: Die erreichte Goldkonzentration, berechnet aus UV/VIS-Spektren, in Abhängigkeit vom Fokusabstand (a) bei verschiedenen Flüssigkeitshöhen (LL). Gravimetrisch bestimmte Abtragsmasse in Abhängigkeit von der Flüssigkeitshöhe (LL) bei verschiedenen Fokusabständen (b). Verwendete Parameter: $f = 63 \text{ mm}$, Repetitionsrate (RR) = 100 kHz, Spiraldurchmesser (d_s) = 3 mm, Abtragsdauer (t) = 90 s.	84
Abbildung 33: Produktivität beim Abtrag von Gold in Wasser für die Brennweiten $f = 63 \text{ mm}$ (a) und $f = 100,1 \text{ mm}$ (b) in Abhängigkeit von der Abtragsdauer (a, b) und der Repetitionsrate bei einer Abtragsdauer von 10 min (c) bei den optimalen Prozessparametern. Verwendete Parameter: $f = 63 \text{ mm}$, LL = 3,5 mm, $\Delta z = 2,0 \text{ mm}$, $d_s = 5 \text{ mm}$ (a, c); $f = 100,1 \text{ mm}$, LL = 3 mm, $\Delta z = 4,4 \text{ mm}$, $d_s = 6,0 \text{ mm}$ (b,c).	87
Abbildung 34: Produktivität beim Abtrag von Gold in Wasser bei den optimalen Repetitionsraten. Bestimmung des stabilen Abtragspunktes. Verwendete Parameter:	

f = 63 mm, LL = 3,5 mm, Δz = 2,0 mm, d_s = 5 mm; f = 100,1 mm, LL = 3,0 mm, Δz = 4,4 mm, d_s = 6 mm.	89
Abbildung 35: Produktivitätsoptimierung durch Variation der Scangeometrie (a) und Bestimmung der Bestrahlungseffizienz durch Angabe der realen Abtragszeit als Anteil der Gesamtzeit t (b). Verwendete Parameter: f = 100,1 mm, t = 270 s, RR = 100 kHz.	90
Abbildung 36: Schematische Darstellung der verwendeten Scangeometrien. Die schwarzen, durchgezogenen Linien stellen die gescannte Fläche dar, die roten, gestrichelten Linien sind die Strecken, die vom Scanner „übersprungen“ werden. ...	91
Abbildung 37: Produktivität beim Abtrag von Gold in unterschiedlichen Flüssigkeiten in Abhängigkeit von der Abtragsdauer (a) und der Repetitionsrate (b). Verwendete Parameter: f = 100,1 mm, RR = 100 kHz, d_s = 6,0 mm.	92
Abbildung 38: Produktivität beim Abtrag von Zink in VCL/AAEM und der aus der Polymerisation resultierende Intensitätsverlust der Laserstrahlung in Abhängigkeit von der eingesetzten VCL-Konzentration (a). [199] Das Foto in a zeigt die zu den Datenpunkten gehörigen Proben. Für jede Konzentration wurde der entsprechende Umsatz mittels Total organic carbon (TOC)-Analyse jeweils in Dreifachbestimmung ermittelt (b).	94
Abbildung 39: Produktivität beim Abtrag von Zink in der Batch-Kammer bei der Herstellung von PVCL/AAEM-Mikrogelen in Abhängigkeit von der verwendeten VCL-Konzentration und der Betriebstemperatur (80 °C und Raumtemperatur) (a). Der dabei erreichte Umsatz wurde durch TOC-Messungen ermittelt (b).	96
Abbildung 40: Schema des Fed-Batch-Aufbaus bzw. des kontinuierlichen Betriebs (a), bestehend aus der Batch-Abtragskammer, zwei Pumpensystemen, einem Vorratsbehälter und einem Sammelbehälter für die resultierende Polymerdispersion. Untersuchung der Produktivität an Gold-Nanopartikeln bei verschiedenen Fed-Batch bzw. kontinuierlichen Fahrweisen in Abhängigkeit von der eingesetzten VCL-Konzentration (b).	97
Abbildung 41: Produktivität bei dem Abtrag von Gold in VCL unterschiedlicher Konzentration (a) und verschiedener Elemente in 0,05 mol/l VCL (b) in einer Durchflussskammer bei Raumtemperatur in Abhängigkeit vom Volumenstrom. Produktivität bei dem Abtrag von Titan in 0,1 mol/l VCL in einer beheizten Durchflussskammer bei Raumtemperatur (c) und in VCL/PEG-MA bei 80 °C (d) in	

Abhängigkeit vom Volumenstrom. Der rote Datenpunkt in c zeigt die Produktivität in der Batch-Kammer.	98
Abbildung 42: Entgasungseffizienz von Wasser mit einem Entgaser im einzyklischen (a) oder mehrzyklischen Betrieb (b) sowie durch Anreicherung mit Argon bzw. Stickstoff (c) in Abhängigkeit vom Volumenfluss, der Entgasungszeit oder Sättigungszeit. Der Inset in c zeigt den pH-Wert des Wassers bei verschiedenen Sauerstoffkonzentrationen. Die graue, gestrichelte Linie in a zeigt die Sauerstoffkonzentration von unbehandeltem Wasser.....	102
Abbildung 43: Lagerungsfähigkeit von entgastem Wasser. Gezeigt sind der Vergleich von Sättigung und Entgaser (a) sowie die Lagerung bei unterschiedlichen Temperaturen von gesättigtem Wasser (b).	104
Abbildung 44: Ergebnisse des Abtrags von Kupfer in Wasser mit unterschiedlichen Sauerstoffkonzentrationen (angegeben in Molverhältnis Cu:O ₂ in der Legende bzw. auf der x-Achse). Darstellung der hergestellten Kolloide mit abnehmender Sauerstoffkonzentration (von links nach rechts) (a) und UV/VIS-Spektren der Lösungen (b). Die grauen Bereiche markieren die charakteristischen Peakbereiche. Aus den UV/VIS-Spektren wurden über den Tauc-Plot die entsprechenden Bandlücken in eV und nm berechnet (c). Abbildung d zeigt die zugehörigen hydrodynamischen Partikeldurchmesser (gemessen über DLS, Anzahlhäufigkeit) und das Zeta-Potential.	106
Abbildung 45: Diffraktogramme von Kupfer-Kolloiden, hergestellt bei verschiedenen Sauerstoffkonzentrationen (angegeben in Molverhältnis Cu:O ₂ auf der x-Achse) (a). Referenzen: ICSD-Nr. 43493 (Cu), 16025 (CuO) und 52043 (Cu ₂ O). Aus den Intensitätsverhältnissen der Reflexe aus den Diffraktogrammen wurden die relativen Verhältnisse der verschiedenen Oxidationsgrade bestimmt (b). Für jedes Molverhältnis Cu:O ₂ in abnehmender Reihenfolge sind die zugehörigen TEM-Aufnahmen dargestellt (c-j).....	108
Abbildung 46: Ergebnisse des Abtrags von Titan in Wasser mit unterschiedlichen Sauerstoffkonzentrationen (angegeben in Molverhältnis Ti:O ₂ in der Legende bzw. auf der x-Achse). Darstellung der hergestellten Kolloide mit abnehmender Sauerstoffkonzentration (von links nach rechts) (a) und UV/VIS-Spektren der Lösungen (b). Die grauen Bereiche markieren die charakteristischen Peakbereiche. Aus den UV/VIS-Spektren wurden über den Tauc-Plot die entsprechenden Bandlücken in eV und nm berechnet (c). Abbildung d zeigt die zugehörigen	

hydrodynamischen Partikeldurchmesser (gemessen über DLS, Anzahlhäufigkeit) und das Zeta-Potential.	110
Abbildung 47: Diffraktogramme von Titan-Kolloiden, hergestellt bei verschiedenen Sauerstoffkonzentrationen (angegeben in Molverhältnis Ti:O ₂ auf der x-Achse) (a). Referenzen: ICSD-Nr. 41503 (Ti), 9161 (TiO ₂ , Rutil) und 9854 (TiO ₂ , Anatas). Durch die Röntgenphotoelektronenspektroskopie konnten die prozentualen Anteile der verschiedenen Oxidationsstufen bestimmt werden (b). Für jedes Molverhältnis Ti:O ₂ in abnehmender Reihenfolge sind die zugehörigen TEM-Aufnahmen dargestellt (c-j).	112
Abbildung 48: Darstellung der verschiedenen Kompositsysteme. PVCL und PVCL/PEG-MA bilden Filme (a), PVCL/AAEM bildet Kapseln (b) in denen die Nanopartikel eingeschlossen sind.	115
Abbildung 49: Hydrodynamischer Durchmesser von Gold-Nanopartikel-beladenem PVCL, bestimmt über dynamische Lichtstreuung (DLS) bei der Variation der Monomerkonzentration (hergestellt am Nanosekundenlaser) (a) und Zeta-Potential von unbeladenem PVCL (0,1 mol/l) (b).	116
Abbildung 50: Thermogravimetrische Analyse von 0,05 mol/l PVCL, beladen mit Gold-Nanopartikeln (a) und Zink-Nanopartikeln (b) (hergestellt am Nanosekundenlaser) in Sauerstoffatmosphäre. Die Heizrate beträgt 5 °C/min.	117
Abbildung 51: Mittlerer hydrodynamischer Partikeldurchmesser von PVCL/AAEM-Mikrogelen beladen mit Zink-Nanopartikeln bei unterschiedlichen VCL-Konzentrationen und in Abhängigkeit von der Betriebstemperatur (80 °C und Raumtemperatur) (a). TEM-Aufnahme eines PVCL/AAEM-Mikrogels (0,1 mol/l VCL), beladen mit Gold-Nanopartikeln (b). Die TEM-Aufnahme wurde von Dr. Philipp Wilke angefertigt.	118
Abbildung 52: Thermogravimetrische Analyse von PVCL/AAEM beladenen mit Zink-Nanopartikeln bei zwei unterschiedlichen VCL-Ausgangskonzentrationen in Sauerstoffatmosphäre. Die Heizrate beträgt 5 °C/min. Die TGA-Messungen wurden von Dr. Philipp Wilke durchgeführt.	120
Abbildung 53: Infrarotspektren (IR-Spektren) der Monomere VCL und AAEM (a), PVCL/AAEM-Mikrogel mit Gold-Nanopartikeln (rot) (b), PVCL/AAEM-Mikrogel mit Kupfer-Nanopartikeln (blau) (c), PVCL/AAEM-Mikrogel mit Eisen-Nanopartikeln (grün) (d) und PVCL/AAEM-Mikrogel mit Zink-Nanopartikeln (schwarz) (e), jeweils im Vergleich zu einem unbeladenen PVCL/AAEM-Mikrogel (grau).	121

Abbildung 54: Mittlerer hydrodynamischer Partikeldurchmesser aus DLS-Messungen von PVCL/PEG-MA-Copolymeren beladen mit Zink- bzw. Eisen-Nanopartikeln bei unterschiedlichen PEG-MA-Konzentrationen und den dazugehörigen TEM-Aufnahmen.....	123
Abbildung 55: Infrarotspektren (IR-Spektren) der Monomere VCL und PEG-MA (a), PVCL/PEG-MA-Copolymer mit Gold-Nanopartikeln (rot) (b), PVCL/PEG-MA-Copolymer mit Kupfer-Nanopartikeln (blau) (c), PVCL/PEG-MA-Copolymer mit Eisen-Nanopartikeln (grün) (d) und PVCL/PEG-MA-Copolymer mit Zink-Nanopartikeln (schwarz) (e), jeweils im Vergleich zu einem unbeladenen PVCL/PEG-MA-Copolymer (grau).	125
Abbildung 56: Mittlere hydrodynamische Durchmesser über DLS-Messungen in Abhängigkeit von der Temperatur (a). Cryo-TEM-Aufnahmen von unbeladenem PVCL/PEG-MA-Copolymer (b) und PVCL/PEG-MA-Copolymer beladen mit Gold-Nanopartikeln (c) bzw. Eisen-Nanopartikeln (d). Die blauen Markierungen kennzeichnen Mikrogele, rote Markierungen Eiskristalle und gelbe Kreise Nanopartikel. Die Herstellung der unbeladenen und Nanopartikel-beladenen Copolymere sowie die DLS-Messungen erfolgten durch M.Sc. Nina Million, die Cryo-TEM-Aufnahmen wurden von M.Sc. Cathalina Molano erstellt.	126
Abbildung 57: Röntgenbeugung (XRD) des unbeladenem PVCL/PEG-MA-Copolymers (grau) und Eisen-Nanopartikel-beladenem PVCL/PEG-MA (a) (Referenzen: ICSD-Nr. 76747 (Fe) und 26410 (Fe_3O_4)), Zink-Nanopartikel-beladenem PVCL/PEG-MA (b) (Referenzen: ICSD-Nr. 31052 (ZnO)) und Kupfer-Nanopartikel-beladenem PVCL/PEG-MA (c) (Referenzen: ICSD-Nr. 16025 (CuO) und 52043 (Cu_2O))......	128
Abbildung 58: Feldemissions-Rasterelektronenmikroskopbilder (FESEM) von PCL Fasern, versponnen mit unbeladenen PVCL-Mikrogelen (a, b) und PVCL/PEG-MA- (5 mol%) Copolymer (c, d). Die Herstellung der Polymere erfolgte durch M.Sc. Nina Million. Das Verspinnen und die Untersuchung der Fasern mittels FESEM wurde von Dr. Philipp Wilke (a, b) und M.Sc. Catalina Molano (c, d) durchgeführt.	130
Abbildung 59: Transmissionselektronenmikroskopbilder (TEM) von PCL-Fasern, welche mit PVCL/PEG-MA-Copolymeren beladen mit Zink-Nanopartikeln versponnen wurden. Die Herstellung der Polymere erfolgte durch M.Sc. Nina Million. Das Verspinnen und die Untersuchung der Fasern mittels TEM wurde von Dr. Philipp Wilke durchgeführt.	132

- Abbildung 60: Transmissionselektronenmikroskopbilder (TEM) von PCL Fasern, versponnen mit PVCL/PEG-MA- (5 mol%) Copolymeren beladen mit Eisen-Nanopartikeln. Die Herstellung der Polymere erfolgte durch M.Sc. Nina Million. Das Verspinnen und die Untersuchung der Fasern mittels TEM wurde von Dr. Philipp Wilke durchgeführt. 133
- Abbildung 61: Energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDX) von Aluminiumfolie, die zum Elektrosponnen verwendet wird. Zur Unterstützung der REM-Aufnahmen (a) wurde eine EDX-Analyse (b) angefertigt und inklusive des zugehörigen Elementspektrums (c) dargestellt. Die Messung, sowie deren Auswertung wurden von M.Sc. Catalina Molano durchgeführt. 134
- Abbildung 62: Charakterisierung von Fasern mit unbeladenem PVCL/PEG-MA-Copolymer. FESEM-Aufnahme des Fasernetzwerks (a) und REM-Aufnahme einer einzelnen Faser (b), welche mittels EDX auf ihre Bestandteile untersucht wurde (c, d). Die Herstellung des Copolymers erfolgte durch M.Sc. Nina Million, das Elektrosponnen, die REM- und EDX-Analysen, sowie deren Auswertung wurden von M.Sc. Catalina Molano durchgeführt. 135
- Abbildung 63: Kumulative Ionenfreisetzung aus einer Faser mit unbeladenem PVCL/PEG-MA-Copolymer. Darstellung der prozentualen Freisetzung (a) und der Freisetzungskonzentration (b). Die Herstellung des Copolymers und die Durchführung der Ionenfreisetzungstests erfolgte durch M.Sc. Nina Million, das Elektrosponnen wurde von M.Sc. Catalina Molano durchgeführt. Die ICP-MS-Analyse wurde in Zusammenarbeit mit Dr. Milen Nachev durchgeführt. 136
- Abbildung 64: Charakterisierung von Fasern mit PVCL/PEG-MA-Copolymer, beladen mit Zink- (0,58 wt% auf der Faser) (a und b) bzw. Kupfer- (0,62 wt% auf der Faser) (c und d) Nanopartikeln. a und c zeigen eine FESEM-Aufnahme des Fasernetzwerks, b und d stellen die REM-Aufnahmen inklusive der EDX-Mapping einer einzelnen Faser dar. Die Herstellung des Copolymers erfolgte durch M.Sc. Nina Million, die FESEM, REM und EDX-Messung, sowie deren Auswertung wurden von M.Sc. Catalina Molano durchgeführt. 137
- Abbildung 65: Kumulative Ionenfreisetzung aus Fasern mit PVCL/PEG-MA-Copolymer, beladen mit Kupfer-Nanopartikeln (a, b), Eisen-Nanopartikeln (c, d) bzw. Zink-Nanopartikeln (e, f) in Abhängigkeit von der Beladung. Die Herstellung des Copolymers und die Durchführung der Ionenfreisetzungstests erfolgte durch M.Sc.

Nina Million, das Elektrosinnen wurde von M.Sc. Catalina Molano durchgeführt. Die ICP-MS-Analyse wurde in Zusammenarbeit mit Dr. Milen Nachev durchgeführt. ...	138
Abbildung 66: Charakterisierung von Fasern mit PVCL/PEG-MA-Copolymer, beladen mit Kupfer- und Zink- (0,71 wt% Cu und 0,42 wt% Zn auf der Faser) Nanopartikeln. FESEM- (a) und REM-Aufnahmen (b) zeigen das hergestellte Fasernetzwerk. Die Faser in b wurde mittels EDX auf ihre Elementbestandteile untersucht (c, d). Die Herstellung des Copolymers erfolgte durch M.Sc. Nina Million, die FESEM, REM und EDX-Messung, sowie deren Auswertung wurden von M.Sc. Catalina Molano durchgeführt.	143
Abbildung 67: Kumulative Ionenfreisetzung aus Fasern mit PVCL/PEG-MA-Copolymer, beladen mit Kupfer- und Eisen-Nanopartikeln (a, b), bzw. Kupfer- und Zink-Nanopartikeln (c, d), in Abhängigkeit von der Beladung. Die Herstellung des Copolymers und die Durchführung der Ionenfreisetzungstests erfolgte durch M.Sc. Nina Million, das Elektrosinnen wurde von M.Sc. Catalina Molano durchgeführt. Die ICP-MS-Analyse wurde in Zusammenarbeit mit Dr. Milen Nachev durchgeführt. ...	144
Abbildung 68: Kumulative Ionenfreisetzung aus Fasern mit PVCL/PEG-MA-Copolymer, beladen mit Eisen- und Zink-Nanopartikeln (a, b), bzw. Kupfer- und Eisen- und Zink-Nanopartikeln (c, d) in Abhängigkeit von der Beladung. Die Herstellung des Copolymers und die Durchführung der Ionenfreisetzungstests erfolgte durch M.Sc. Nina Million, das Elektrosinnen wurde von M.Sc. Catalina Molano durchgeführt. Die ICP-MS-Analyse wurde in Zusammenarbeit mit Dr. Milen Nachev durchgeführt. ...	145
Abbildung 69: REM-Aufnahmen und zugehörige EDX-Messung eines PVCL/PEG-MA-Copolymers, beladen mit Kupfer- und Zink-Nanopartikeln.	147
Abbildung 70: Anwendungsbereiche der hergestellten Ionenfreisetzungssysteme.	149
Abbildung 71: Skizze des höheren Studienziels. Durch die Herstellung von Nanopartikel-beladenen Mikrogelen auf der Faseroberfläche soll eine verbesserte Wundheilung von Brandwunden erhalten werden.	150
Abbildung 72: Einfluss von Eluaten aus PVCL/AAEM-Mikrogelen (a, b) bzw. Fasern beladen mit PVCL/AAEM-Mikrogelen (c, d) unterschiedlicher Konzentration auf die L929 Zelllinie. Die Daten der Zytotoxizitätsmessungen (a, c) wurden normiert auf den Lysis-Wert, die Proliferationsmessungen (b, d) wurden normiert auf die Kontrollkultur. Jeder Messwert ist der Mittelwert inklusive Standardabweichung von drei voneinander unabhängigen Experimenten. Angegeben ist die Bonferroni Varianzanalyse mit * $p < 0,05$. Die Herstellung der Mikrogele erfolgte durch M.Sc. Nina Million, die	

Herstellung der Fasern durch Dr. Philipp Wilke und die biologischen Testungen durch M.Sc. Vincent Coger. [269].....	151
Abbildung 73: Einfluss verschiedener Mikrogel-Eluatkonzentrationen auf hd-FB (a, b) und h-KC (c, d). Proliferationstests (a, c) wurden normalisiert auf die Kontrollkultur, die Zytotoxizitätstests (b, d) auf den Lysis-Wert. Die Ergebnisse zeigen die Mittelwerte aus drei voneinander unabhängigen Experimenten und deren Standardabweichung vom Mittelwert. Die Bonferroni Varianzanalyse sind mit $p < 0,05$ gegen die Kontrollkultur (a) und gegen das unbeladene Mikrogel (b) gezeigt. Die Herstellung der Mikrogele erfolgte durch M.Sc. Nina Million und die biologischen Testungen durch M.Sc. Vincent Coger. [199]	153
Abbildung 74: Einfluss von Eluaten aus Mikrogele auf die Zellmigration (Scratchtests) von hd-FB (a, c-g) und h-KC (b, h-l). Abbildungen a und b zeigen die wiederbesiedelte Fläche mit Zellen nach 48 h im Vergleich zum Initialspalt ($t = 0$), normalisiert auf initiale freie Fläche als maximal erreichbare Migration. Die zugehörigen Kontrastbilder bei $t = 0$ (c und h) sowie die Fluoreszenzbilder nach 48 h für die Kontrollkultur (d, i), unbeladene PVCL/AAEM-Mikrogele (e, j), Eisen-Nanopartikel-beladene PVCL/AAEM-Mikrogele (f, k) und Zink-Nanopartikel-beladene PVCL/AAEM-Mikrogele (g, l) zeigen den Ursprung der in a und b gezeigten Werte. Die Bilder sind repräsentativ für jeweils drei voneinander unabhängige Experimente. Bonferroni-Analyse ist angegeben mit * $p < 0,05$ und *** $p < 0,001$. Die Herstellung der Mikrogele erfolgte durch M.Sc. Nina Million und die biologischen Testungen durch M.Sc. Vincent Coger. [199] ⁷⁰	154
Abbildung 75: Validierung der Messmethode ICP-MS anhand der Referenzmaterialien Dorm3 (a) und Muschelgewebe (b). Die Probenverarbeitung für die Analyse wurde von Marcus Hildebrandt und Dr. Milen Nachev vorgenommen und die Analyse mittels ICP-MS durch letzteren durchgeführt.	156
Abbildung 76: Metallionenkonzentrationen in Vollhautwunden von Ratten zu verschiedenen Heilungszeitpunkten. Der Wert zum Zeitpunkt 0 kennzeichnet den Ionengehalt einer gesunden und intakten Hautschicht (Normalhaut). Die Rattenhaut wurde von M.Sc. Vincent Coger präpariert, die Probenverarbeitung für die Analyse wurde von Marcus Hildebrandt, M.Sc. Nina Million und Dr. Milen Nachev vorgenommen und die Analyse mittels ICP-MS durch letzteren durchgeführt.	157
Abbildung 77: Vergleich der Metallionenkonzentrationen in Vollhautwunden von Ratten und Menschen zum Zeitpunkt 0 (Normalhaut). Die Ratten- und Menschenhaut wurde von M.Sc. Vincent Coger präpariert, die Probenverarbeitung für die Analyse	

wurde von M.Sc. Nina Million und Dr. Milen Nachev vorgenommen und die Analyse mittels ICP-MS durch letzteren durchgeführt.	159
Abbildung 78: Skizze des höheren Studienziels. Durch die Herstellung eines Gerüsts soll eine verbesserte Zellzüchtung zur Bildung von dreidimensionalen Gefäßen erlangt werden.	161
Abbildung 79: Transmissionselektronenmikroskopie zur Größenbestimmung von Nanopartikeln in Alginatlösungen nach dem Laserabtrag. Bilder rechts neben den Histogrammen zeigen die Probenlösungen nach dem Abtrag (oben) und nach 6 Monaten Lagerung (unten). Das Alginat wurde jeweils beladen mit Gold-Nanopartikeln (0,0053 wt%) (a) bzw. Eisen-Nanopartikeln (0,0116 wt%) (b). Aus den TEM-Bildern wurde der Interpartikelabstand (IPD) für Alginat beladen mit Gold-Nanopartikeln bestimmt (c). [197]	163
Abbildung 80: Foto der Bioextrusion (a). Die Extrusion führt zu dünnen und mehreren Zentimeter langen Alginatröhren, beladen mit Gold- (b, links und c) oder Eisen- (b, rechts) Nanopartikeln. [197] Die Fotos in a und c wurden von M.Sc. Andreas Blaeser erstellt und zur Verfügung gestellt. Das Foto in b entstand durch M.Sc. Nina Million.	165
Abbildung 81: Darstellung der Präparation von Nanopartikel-beladenen Alginatröhren für die Konfokalmikroskopie (a). Der analysierte Bereich ist durch ein schwarzes Rechteck gekennzeichnet. Die Lage der Probe im Konfokalmikroskop ist in b dargestellt. [197].....	166
Abbildung 82: Konfokalmikroskopbilder von Alginatröhren beladen mit Gold-Nanopartikeln (0,0032 wt%). Abbildungen a, b und c zeigen die Nanopartikelverteilung in einem Totalscan (Schrittweite 5 µm) der Röhre (schwarzes Rechteck in Abbildung 81). a zeigt einen detaillierten Scan der Innenwand der Röhre (Schrittweite des Scans 1 µm), c ist auf die Außenwand fokussiert (Schrittweite des Scans 1 µm). Die Detailaufnahme in d veranschaulicht die Nanopartikelverteilung in einer Ebene der Röhre. Die Ausschnitte e und f zeigen Vergrößerungen des gekennzeichneten Bereichs in d. [197]	167
Abbildung 83: Konfokalmikroskopbilder von Alginatröhren mit Gold-Nanopartikeln (0,0032 wt%) in einer Ebene der Röhre (schwarzes Rechteck in Abbildung 81). Die Detailaufnahme a zeigt die Detektion von Nanopartikeln, b zeigt die Kontrastaufnahme der Matrix und c ist eine Überlagerung von a und b. [197].....	169

- Abbildung 84: Konfokalmikroskopbilder von Alginatröhren beladen mit Eisen-Nanopartikeln (0,0034 wt%). Abbildungen a und b zeigen die Nanopartikelverteilung in einem Totalscan (Schrittweite 5 μm) der Röhre (schwarzes Rechteck in Abbildung 81). a zeigt einen detaillierten Scan der Innenwand der Röhre (Schrittweite des Scans 0,5 μm). Die Detailaufnahme in c veranschaulicht die Nanopartikelverteilung in einer Ebene der Röhre. Der Ausschnitt d zeigt eine Vergrößerung von d. [197]..... 170
- Abbildung 85: Konfokalmikroskopbilder von Alginatröhren ohne Nanopartikelbeladung in einer Ebene der Röhre (schwarzes Rechteck in Abbildung 81). Die Detailaufnahmen a und b zeigen die Detektion von Nanopartikeln (Gold oder Eisen) und c zeigt die Kontrastaufnahme der Matrix. 171
- Abbildung 86: Zugfestigkeitstestungen von unbeladenem Alginat (Alg) und Alginaten beladen mit Eisen-Nanopartikeln (Fe) (0,007 wt%) bzw. Gold-Nanopartikeln (Au) (0,0043 wt%) (a). Ab einer Dehnung von 40 % tritt Wasser aus den Gelen aus, was durch einen Knick im Graphen sichtbar ist. Die jeweils drei Kurven je Graph stellen die durchgeführten Dreifachmessungen dar. Die maximale Spannung und Dehnung beim Versagen (b) sowie das Elastizitätsmodul für vier verschiedene Dehnungswerte (c) wurden bestimmt. Die Signifikanz ist mit $p < 0,05$ (*) und $p < 0,005$ (***) angegeben. [197] Die Herstellung der Nanopartikel-beladenen Alginatlösungen erfolgte durch M.Sc. Nina Million. Die Herstellung der Probenplättchen, die Durchführung der mechanischen Testungen sowie deren Auswertung und graphische bzw. bildliche Darstellung erfolgte durch M.Sc. Andreas Blaeser. 172
- Abbildung 87: Quellverhalten (a), Hydrophilie (b) und Ionenfreisetzung (c und d) von unbeladenen Alginatgelen und Alginaten beladen mit Eisen-Nanopartikeln (Fe) (0,007 wt%) bzw. Gold-Nanopartikeln (Au) (0,0043 wt%). Zur Veranschaulichung wurde sowohl die akkumulierte Freisetzung (c) als auch die mittlere Ionenfreisetzung pro Stunde (d) aufgetragen. Die Signifikanz ist mit $p < 0,05$ (*) und $p < 0,005$ (***) angegeben. [197] Die Herstellung der Nanopartikel-beladenen Alginatlösungen sowie die Plättchenherstellung für die Ionenfreisetzung erfolgte durch M.Sc. Nina Million und M.Sc. Anna Tymoczko. Die Freisetzungsexperimente erfolgten durch Dr. Milen Nachev. Die Herstellung der Probenplättchen, die Durchführung der mechanischen Testungen sowie deren Auswertung und graphische bzw. bildliche Darstellung erfolgte durch M.Sc. Andreas Blaeser. 174
- Abbildung 88: Viabilität- und Morphologieanalyse von L929 Fibroblasten im 2D- (a und b) und 3D-Aufbau (c und d) mit Nanopartikel-beladenen und unbeladenen

Alginateplättchen. In der 2D-Durchführung enthalten die Plättchen 0,0082 wt% Gold- bzw. 0,0116 wt% Eisen-Nanopartikel. Die verwendeten Plättchen in den 3D-Experimenten enthalten Nanopartikel in der Hälfte der Konzentration der 2D-Experimente. Die Fluoreszenz-Aufnahmen in e ermöglichen eine Beurteilung der Morphologie. [197] Die Herstellung der Nanopartikel-beladenen Alginatelösungen erfolgte durch M.Sc. Nina Million. Die Herstellung der Probenplättchen, die Durchführung der Zellexperimente sowie deren Auswertung und graphische bzw. bildliche Darstellung erfolgte durch M.Sc. Andreas Blaeser.	176
Abbildung 89: Viabilität- und Morphologieanalyse von HUVECs im 2D-Aufbau mit Nanopartikel-beladenen und unbeladenen Alginateplättchen. Die durchschnittliche Anzahl an Zellen (a) und die Zellviabilität (b) sind für die Versuchstage 3 und 7 gezeigt. Die Plättchen enthalten 0,0082 wt% Gold- bzw. 0,0116 wt% Eisen-Nanopartikel. Die Fluoreszenz-Aufnahmen ermöglichen eine Beurteilung der Morphologie. [197] Die Herstellung der Nanopartikel-beladenen Alginatelösungen erfolgte durch M.Sc. Nina Million. Die Herstellung der Probenplättchen, die Durchführung der Zellexperimente sowie deren Auswertung und graphische bzw. bildliche Darstellung erfolgte durch M.Sc. Andreas Blaeser.....	177
Abbildung 90: Immunofluoreszenz-Bilder von HUVECs, welche auf Alginateplättchen kultiviert wurden (a). Aktinfilamente werden durch grüne Fluoreszenz dargestellt. Der Zellkern zeigt eine blaue Fluoreszenz. Die Fläche von Einzelzellen, bedeckt mit Aktinfilamenten, (b) und das Aspektverhältnis der Zellen (c) wurden untersucht. HUVECs, welche auf Eisen-Nanopartikel-beladenen Alginaten kultiviert wurden, zeigen eine vermehrte Filopodia-Bildung (d), markiert mit einem Pfeil. Verwendet wurden unbeladene Gele sowie Gele beladen mit Gold-Nanopartikeln (Au) (0,0082 wt%) bzw. Eisen-Nanopartikeln (Fe) (0,0116 wt%). Die Signifikanz ist mit $p < 0,05$ (*) und $p < 0,005$ (***) angegeben. [197] Die Herstellung der Nanopartikel-beladenen Alginatelösungen erfolgte durch M.Sc. Nina Million. Die Herstellung der Probenplättchen, die Durchführung der Zelltests sowie deren Auswertung und graphische bzw. bildliche Darstellung erfolgte durch M.Sc. Andreas Blaeser.	179
Abbildung 91: Skizze des höheren Studienziels. Durch die Herstellung eines Gerüsts soll die Differenzierung von Stammzellen beeinflusst werden, um dreidimensionale Gewebe erzeugen zu können.....	183

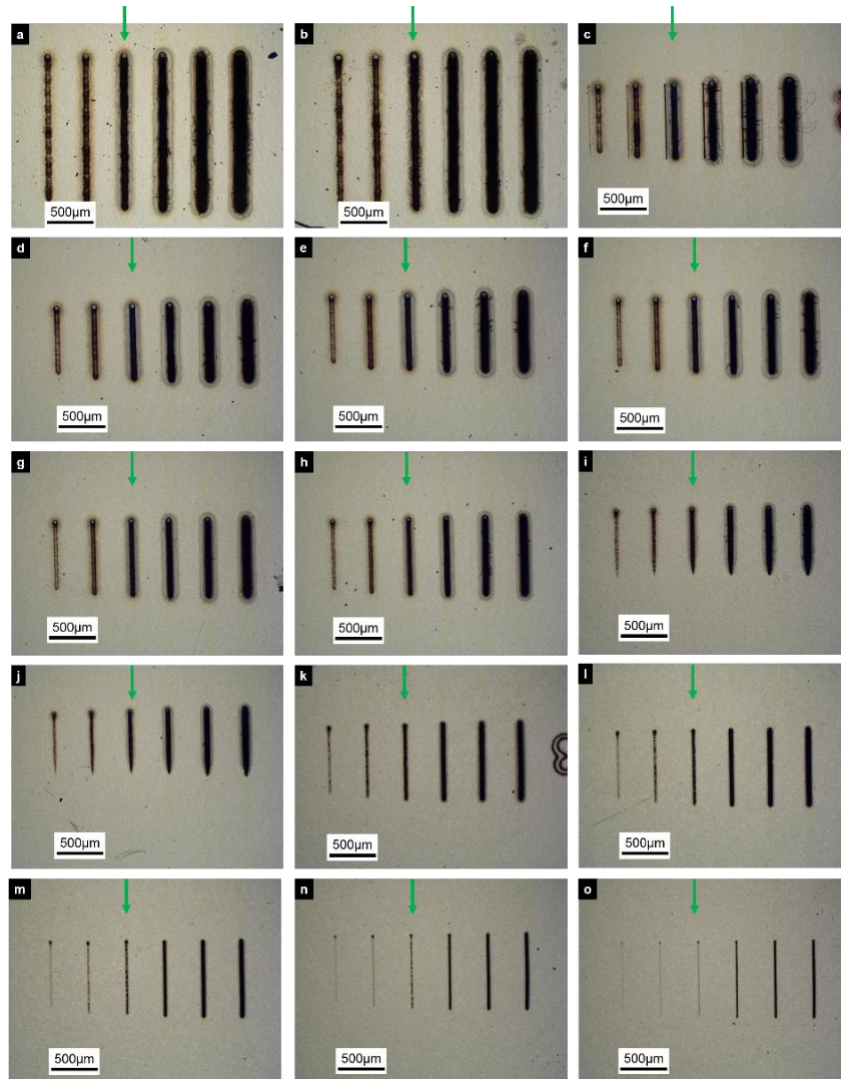
Abbildung 92: Transmissionselektronenmikroskopbilder einer Gold-Nanopartikel-beladenen (0,51 wt%) PEG-DA-Lösung (0,143 mol/l) (a-d). Histogramm erstellt aus TEM-Aufnahmen, 429 ausgezählte Partikel (e).	184
Abbildung 93: Eisen-Nanopartikel-beladene (0,06 wt%) PEG-DA-Lösung (0,357 mol/l) (a), Transmissionselektronenmikroskopbilder einer Eisen-Nanopartikel-beladenen PEG-DA-Lösung (b-e).	185
Abbildung 94: PEG-DA-Lösungen (1,43 mol/l) mit unterschiedlichen Nanopartikelbeladungen (a1 = Au 44 µg/ml; a2 = Au 83 µg/ml; a3 = Fe 9 µg/ml). Aus den Lösungen hergestellte PEG-DA-Plättchen mit Eisen-Nanopartikeln (b) und Gold-Nanopartikeln (c) unterschiedlicher Konzentration. Die Größe jedes Plättchens beträgt ca. 18x18 mm. Die Herstellung der Plättchen wurde von Dipl. Biol. Katharina Brändle durchgeführt.	186
Abbildung 95: Konfokalmikroskopbilder von unbeladen (a), bzw. mit Eisen-Nanopartikeln- (0,012 wt%) beladenen (b) PEG-DA/PEG-MA-Gelplättchen in einer Ebene des Plättchens. Die erste Spalte zeigt ein Bild der Plättchen, die zweite Spalte die Detektion von Nanopartikeln, die dritte Spalte zeigt die Kontrastaufnahme der Matrix und die vierte Spalte ist eine Überlagerung der zweiten und dritten.	187
Abbildung 96: Konfokalmikroskopbild von PEG-DA/PEG-MA-Gelplättchen beladen mit Eisen-Nanopartikeln (0,012 wt%). Die Aufnahme zeigt die Nanopartikelverteilung in einem Totalscan (Schrittweite 1 µm) des Plättchens (a). Freisetzung von Eisenionen aus PEG-DA-Gelplättchen beladen mit Eisen-Nanopartikeln (0,012 wt%) (b). Die Durchführung und Auswertung der Ionenfreisetzungstests erfolgte durch Dipl. Biol. Katharina Brändle und Marita Heinle.	188
Abbildung 97: Differenzierungsschritte von der Stammzelle bis zum Erythrozyten sowie die Rezeptoren zum Nachweis des Differenzierungsstadiums (CD71 und GPA). (BFU-e = burst-forming unit erythroid, CFU-e = colony-forming unit erythroid). Erstellt nach [306].	189
Abbildung 98: Erythrozytendifferenzierung innerhalb von 7 und 14 Tagen unter dem Einfluss von Eisen- (0,012 wt%) oder Gold-Nanopartikel- (0,0052 wt%) beladenen PEG-DA/PEG-MA-Gelen mit und ohne den Zusatz von Eisennitrat (Angaben an der x-Achse in µg/ml). Detektion der Oberflächenmarker CD71 und CD235. Die Durchführung und Auswertung der Zelltestungen wurde von Dipl. Biol. Katharina Brändle durchgeführt.	190

8.4 Tabellenverzeichnis

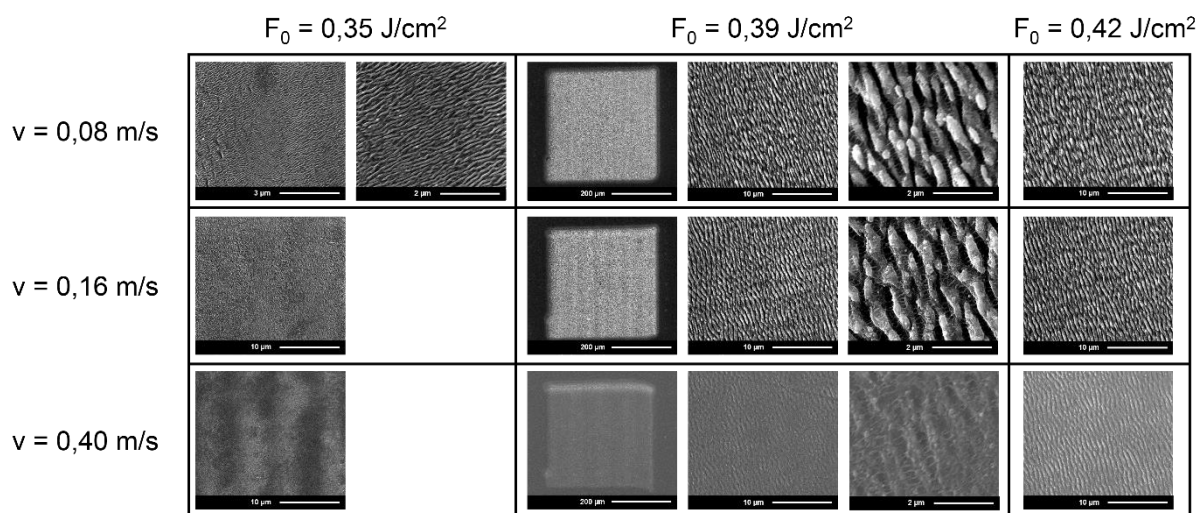
Tabelle 1: Ausgewählte Medizinprodukte zur unterstützten Wundheilung.	7
Tabelle 2: Verwendete Chemikalien.	34
Tabelle 3: Verwendete Geräte an der Universität Duisburg-Essen.	37
Tabelle 4: Verwendete Geräte von Kooperationspartnern.	40
Tabelle 5: Bestrahlungs- und Detektionswellenlängen bei der Konfokalmikroskopie von Nanopartikel-beladenen und -unbeladenen Alginatröhren und PEG-DA-Plättchen.	44
Tabelle 6: Zuordnung der verwendeten Abtragskammer zum durchgeführten Experiment mit Kapitelangabe.	45
Tabelle 7: Verwendete Parameter beim Laserabtrag mit dem Pikosekundenlaser. ..	48
Tabelle 8: Verwendete Abtragskammer für das jeweilige Polymersystem.	48
Tabelle 9: Probenmatrix zur Ionenfreisetzung aus Fasern, versponnen mit Nanopartikel-beladenen Copolymeren.	53
Tabelle 10: Probenmatrix der Experimente zur Stammzelldifferenzierung.	64
Tabelle 11: Zusätze zum HPC Wachstumsmedium. Angaben je 15 ml. Die Angaben in Klammern geben die Endkonzentration an.	64
Tabelle 12: Berechnete lineare Fokusverschiebung für eine Brennweite von 63 mm bei verschiedenen Flüssigkeitshöhen.	85
Tabelle 13: Diffusionskoeffizienten verschiedener Metallionen in Wasser bei 25 °C. [223]	146
Tabelle 14: Dichte von Metallen bzw. Metalloxiden. [223]	147
Tabelle 15: Abkürzungsverzeichnis.	232
Tabelle 16: Abkürzungsverzeichnis für Einheiten.	233
Tabelle 17: Abkürzungsverzeichnis für Formelvariablen.	234

9. Anhang

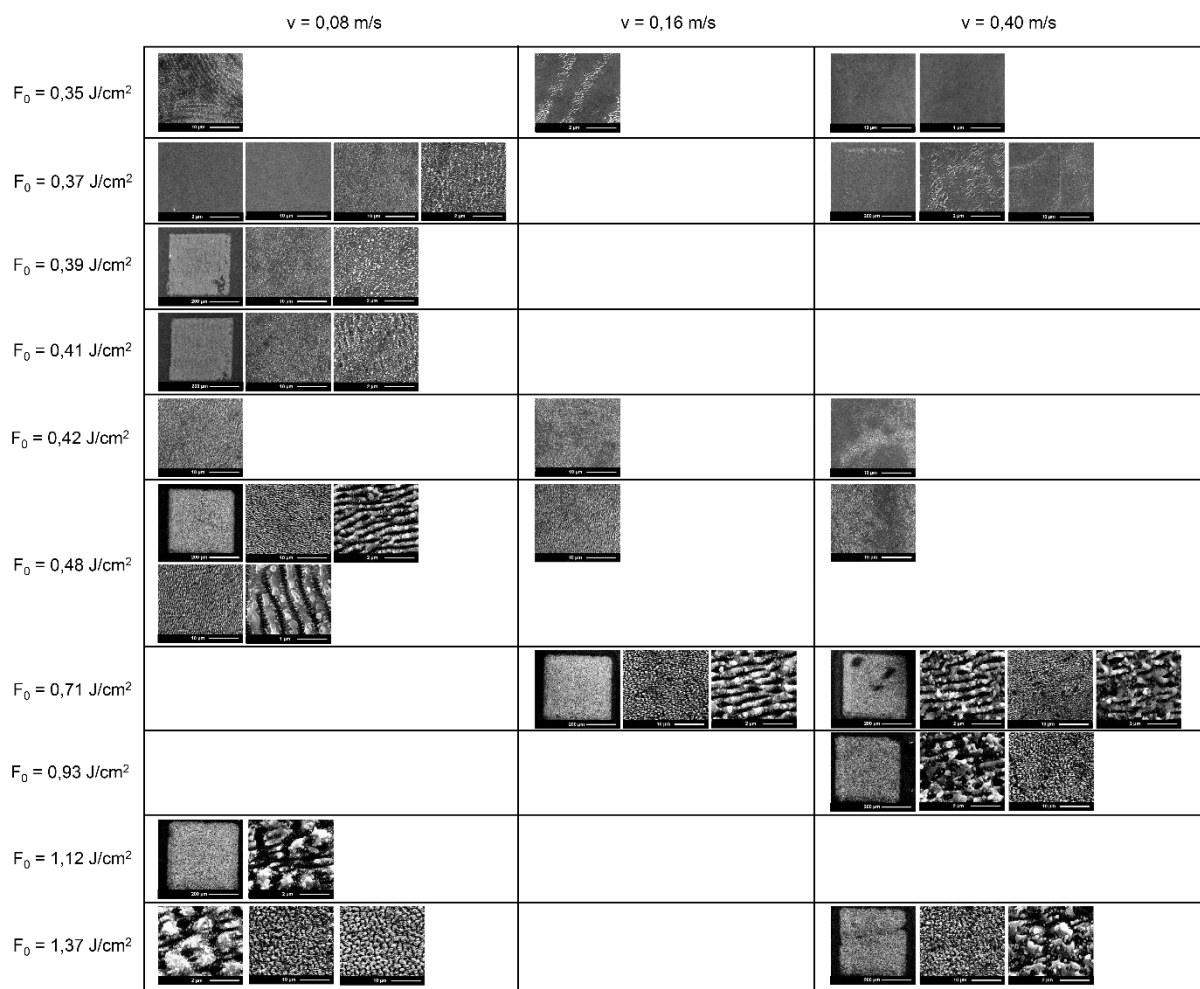
9.1 Laserinduzierte periodische Oberflächenstrukturierung



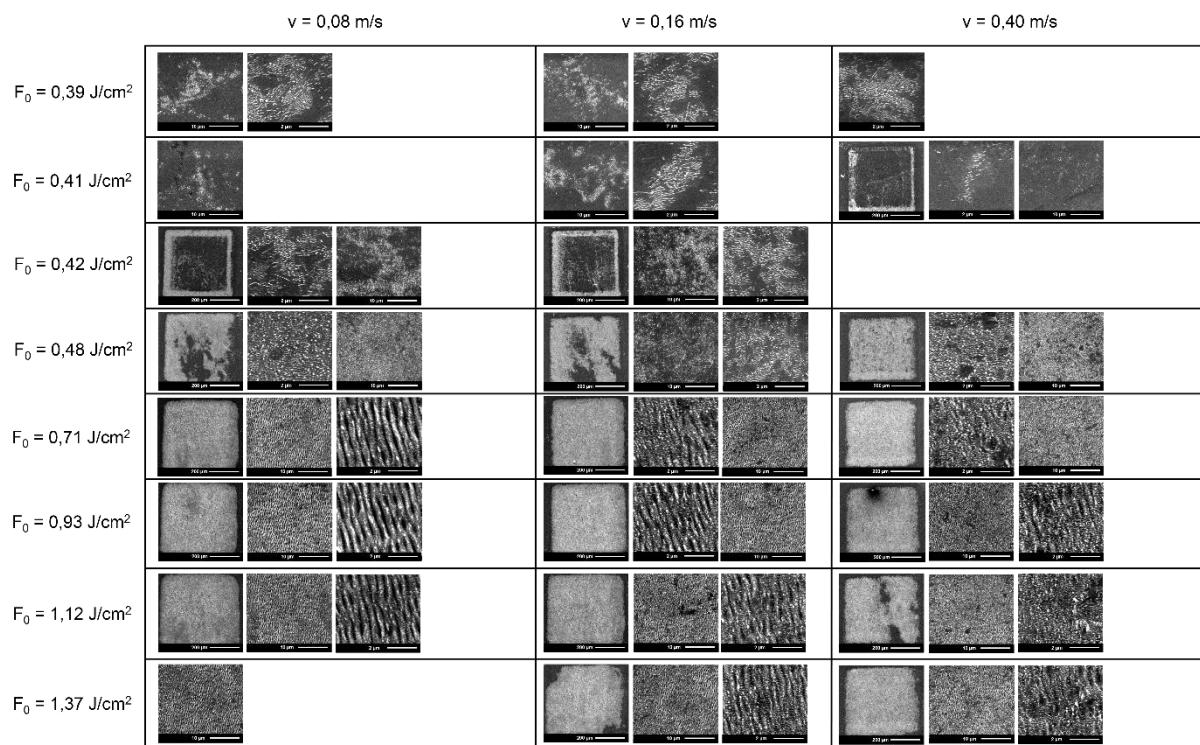
Anhang 1: Optische Mikroskopiebilder von Titanoberflächen nach der Pikosekunden-Laserbestrahlung in Luft. Die Bilder von a bis o zeigen die Ergebnisse der Bestrahlung mit Fluenzen von 14,23 J/cm², 12,7 J/cm², 11,52 J/cm², 10,19 J/cm², 8,8 J/cm², 7,32 J/cm², 5,8 J/cm², 4,14 J/cm², 2,34 J/cm², 1,37 J/cm², 0,93 J/cm², 0,71 J/cm², 0,48 J/cm² und 0,42 J/cm². Die Linien auf jeder Oberfläche wurden mit Scangeschwindigkeiten (von links nach rechts) von 1,6 m/s, 0,8 m/s, 0,4 m/s, 0,16 m/s, 0,08 m/s und 0,05 m/s erstellt. Die grünen Pfeile markieren die Linien, die zur Auswertung des Strahldurchmessers und der Schwellfluenz verwendet wurden.



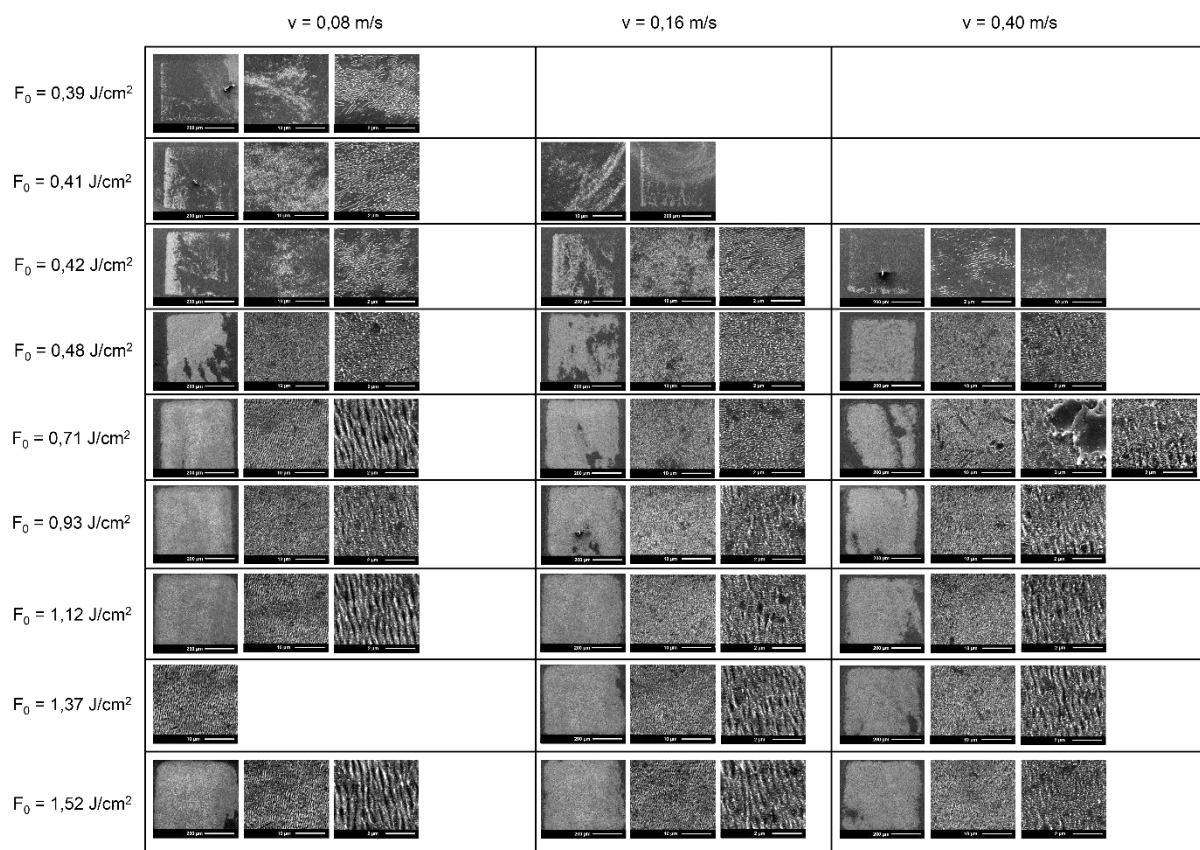
Anhang 2: Rasterelektronenmikroskopbilder von Titanoberflächen nach der flächenscannenden Pikosekunden-Laserbestrahlung in Luft bei unterschiedlichen Scangeschwindigkeiten und Peakfluenzen.



Anhang 3: Rasterelektronenmikroskopbilder von Titanoberflächen nach der flächenscannenden Pikosekunden-Laserbestrahlung in Wasser bei unterschiedlichen Scangeschwindigkeiten und Peakfluenzen.



Anhang 4: Rasterelektronenmikroskopbilder von Titanoberflächen nach der flächenscannenden Pikosekunden-Laserbestrahlung in Methanol bei unterschiedlichen Scangeschwindigkeiten und Peakfluenzen.



Anhang 5: Rasterelektronenmikroskopbilder von Titanoberflächen nach der flächenscannenden Pikosekunden-Laserbestrahlung in THF bei unterschiedlichen Scangeschwindigkeiten und Peakfluenzen.

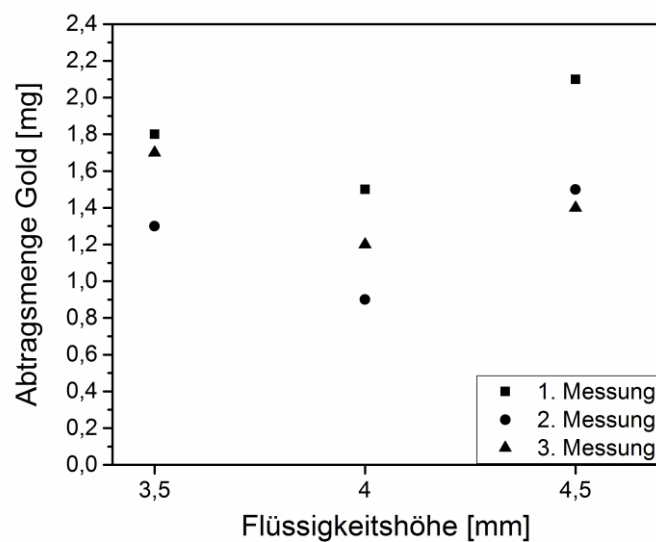
9.2 Einflüsse auf die Ausbeute beim Laserabtrag in Flüssigkeiten

9.2.1 Laser- und Prozessparameter

Anhang 6: Zusammenfassung der optimalen Parameter und Produktivitäten für den Laserabtrag.

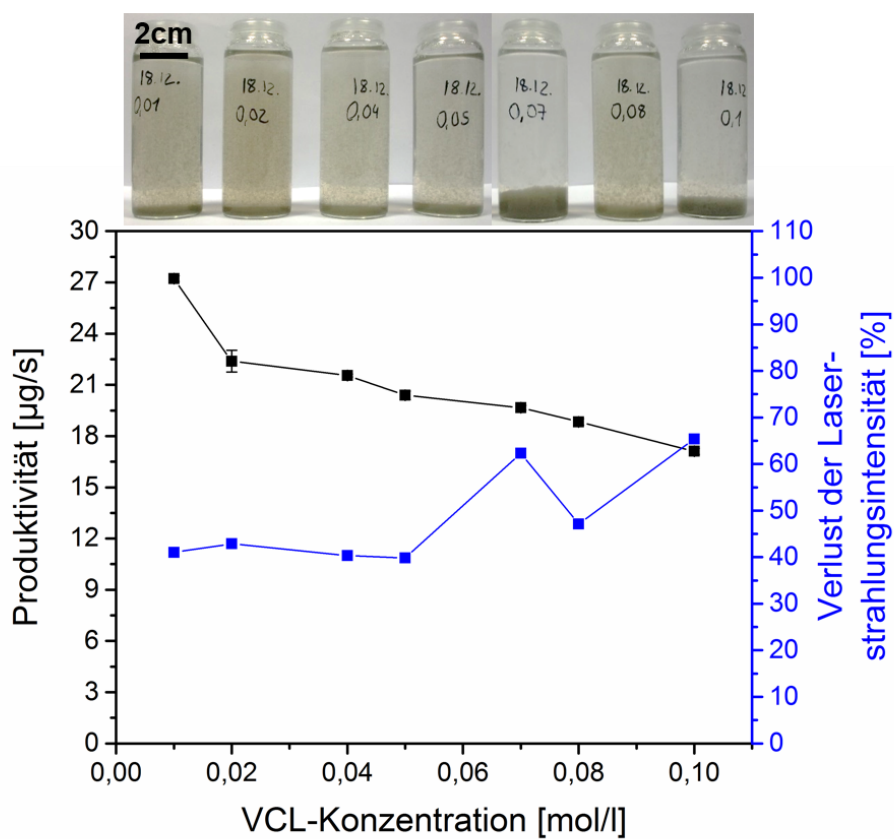
Gold in Wasser			
		f = 63 mm	f = 100,1 mm
Optimaler Fokus	Δz [mm]	2,0	4,4
	Arbeitsabstand [mm]	76,5	116,4
Optimale Flüssigkeitshöhe	LL [mm]	3,5	3,0
Optimaler Spiraldurchmesser	ds [mm]	5,0	6,0
Optimale Repetitionsrate	RR [kHz]	50	100
Produktivität	[$\mu\text{g/s}$]	17,2	17,8
	[mg/h]	61,9	64,1
Gold in Aceton			
		f = 63 mm	f = 100,1 mm
Optimaler Fokus	Δz [mm]	1,75	1,5
	Arbeitsabstand [mm]	76,25	113,5
Optimale Flüssigkeitshöhe	LL [mm]	4,0	2,5
Optimaler Spiraldurchmesser	ds [mm]	5,0	6,0
Optimale Repetitionsrate	RR [kHz]	33	100
Produktivität	[$\mu\text{g/s}$]	7,0	4,73
	[mg/h]	25,2	17,03

Gold in Ethylenglykol/Wasser			
		f = 63 mm	f = 100,1 mm
Optimaler Fokus	Δz [mm]	1,5	1,75
	Arbeitsabstand [mm]	76,25	113,75
Optimale Flüssigkeitshöhe	LL [mm]	3,0	3,0
Optimaler Spiraldurchmesser	d_s [mm]	5,0	6,0
Optimale Repetitionsrate	RR [kHz]	100	100
Produktivität	[$\mu\text{g/s}$]	7,14	6,9
	[mg/h]	25,7	24,84



Anhang 7: Reproduzierbarkeitsstudie der Abtragsmenge Gold bei verschiedenen Flüssigkeitsschichten zur Bestimmung der optimalen Schichthöhe für einen maximalen Abtrag. Verwendete Parameter: $f = 63$ mm, Repetitionsrate (RR) = 100 kHz, Spiraldurchmesser (d_s) = 3 mm, Abtragsdauer (t) = 90 s.

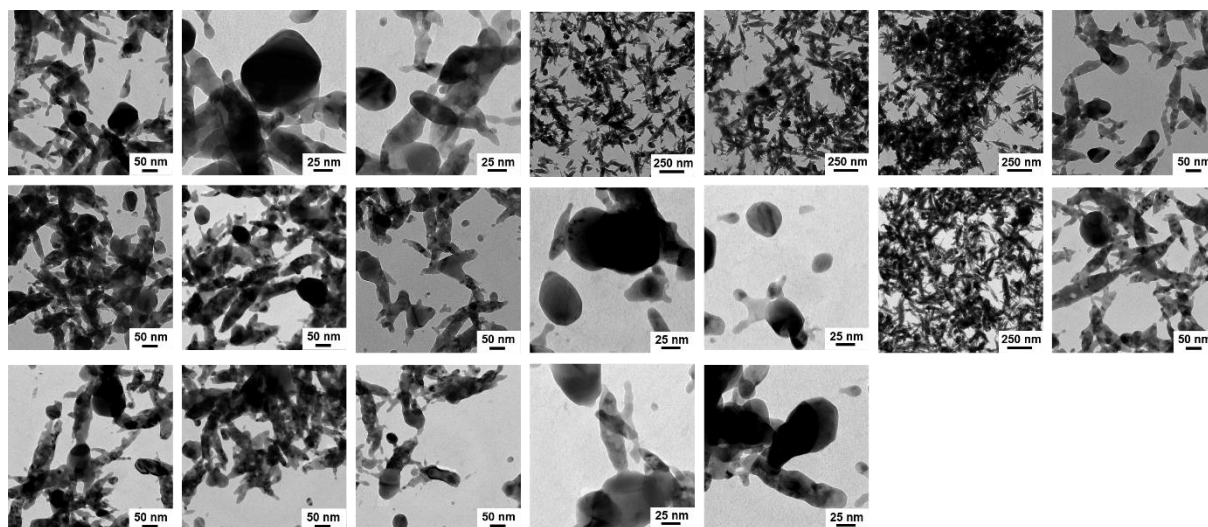
9.2.2 Materialparameter



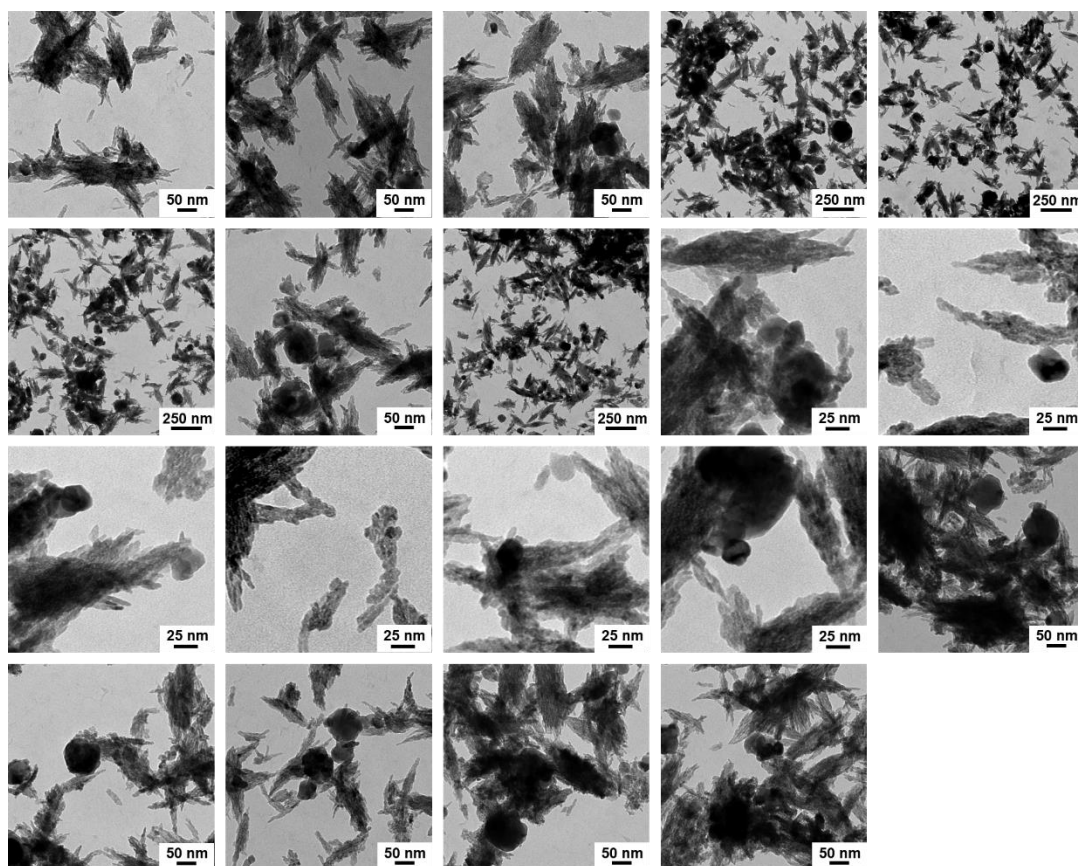
Anhang 8: Produktivität beim Abtrag von Zink in VCL/AAEM und der aus der Polymerisation resultierende Intensitätsverlust der Laserstrahlung in Abhängigkeit von der eingesetzten VCL-Konzentration (a) beim Abtrag bei Raumtemperatur. Die Fotos zeigen die zu den Datenpunkten gehörigen Proben.

9.3 Einfluss des Sauerstoffgehalts auf den Oxidationszustand lasergenerierter Nanopartikel

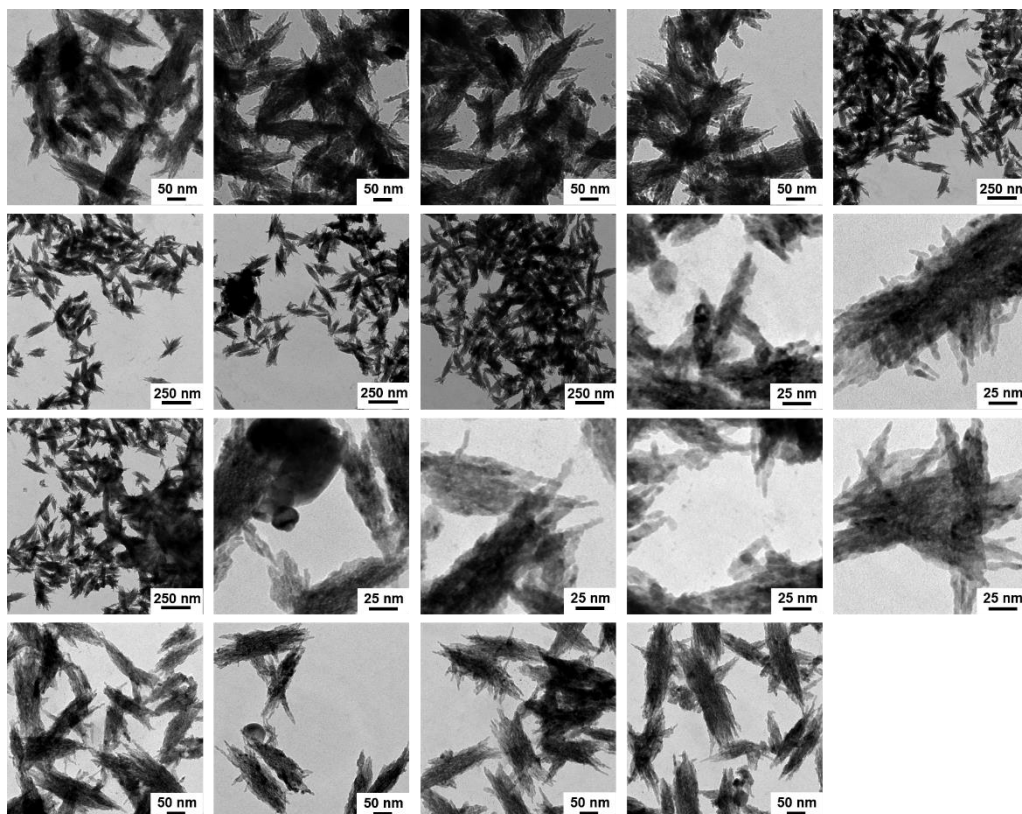
9.3.1 Laserablation in Wasser mit unterschiedlichen Sauerstoffkonzentrationen



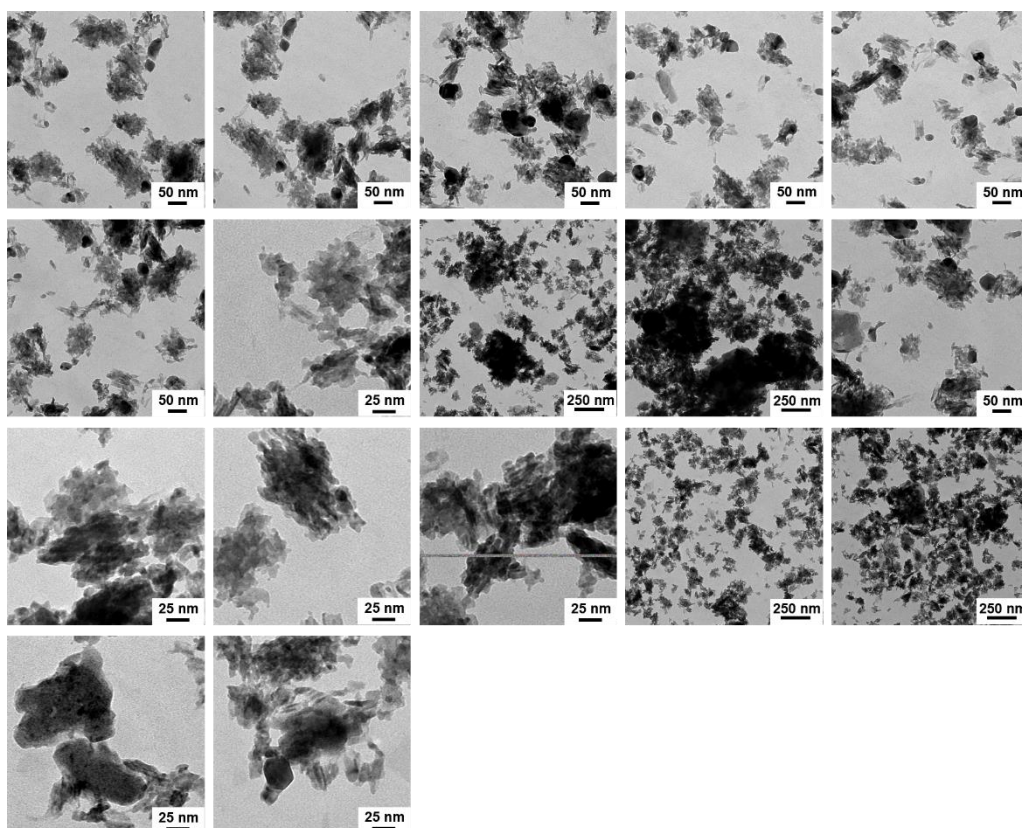
Anhang 9: Transmissionselektronenmikroskopbilder von Kupfer-Nanopartikeln, hergestellt in entgastem Wasser.
Das Molverhältnis Cu:O₂ beträgt 1:0,029.



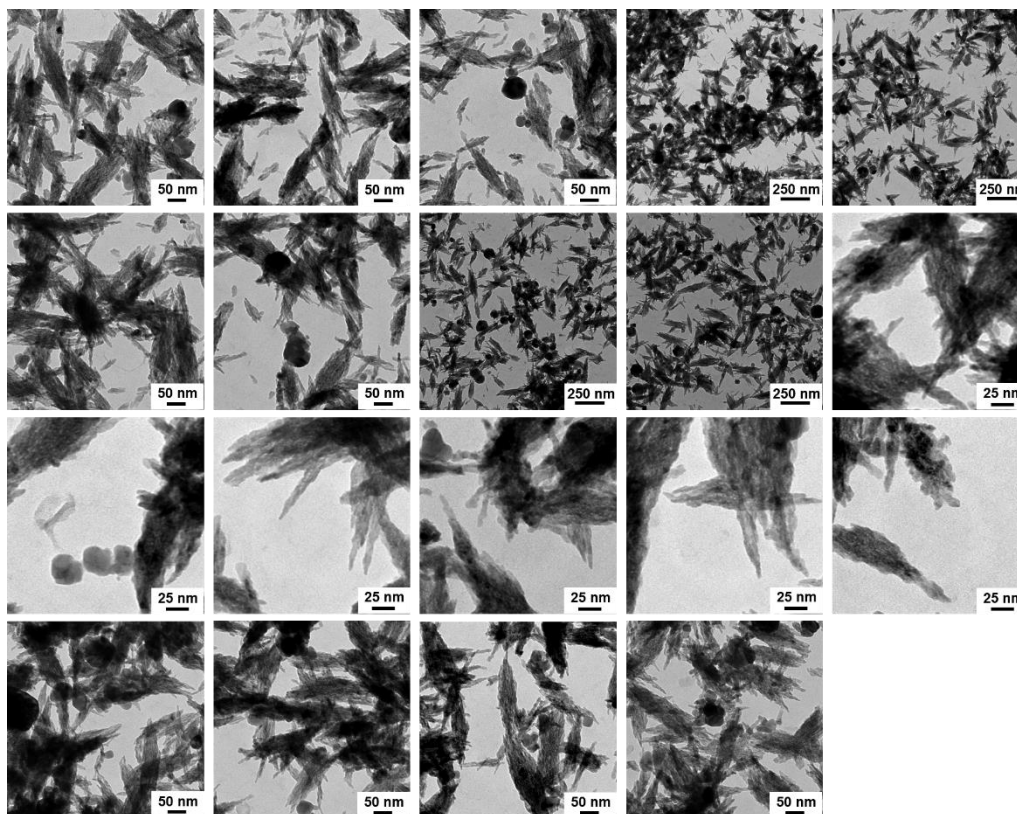
Anhang 10: Transmissionselektronenmikroskopbilder von Kupfer-Nanopartikeln, hergestellt in entgastem Wasser.
Das Molverhältnis Cu:O₂ beträgt 1:0,0028.



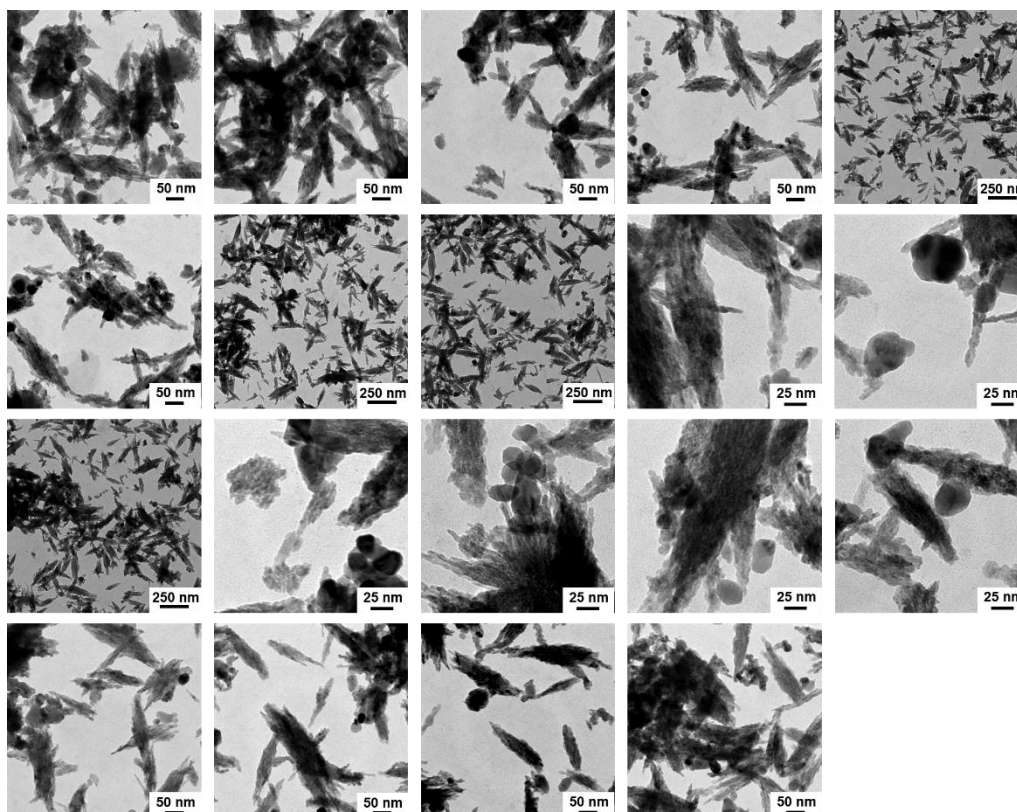
Anhang 11: Transmissionselektronenmikroskopbilder von Kupfer-Nanopartikeln, hergestellt in entgastem Wasser.
Das Molverhältnis Cu:O₂ beträgt 1:0,0094.



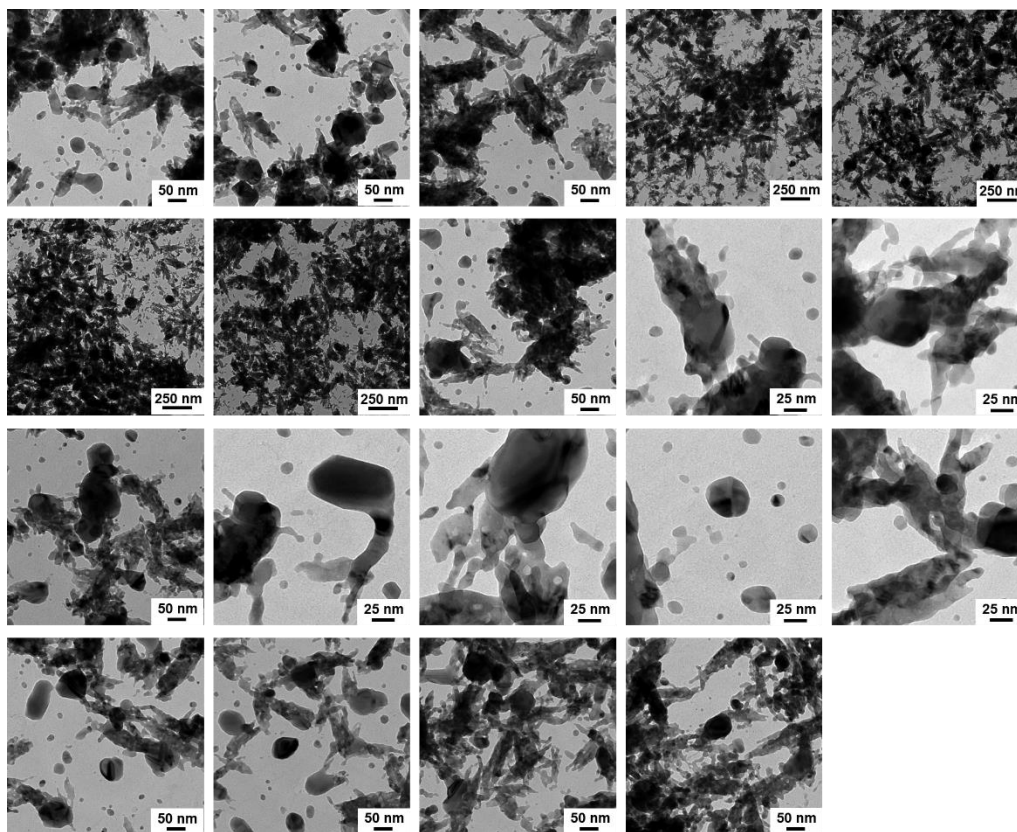
Anhang 12: Transmissionselektronenmikroskopbilder von Kupfer-Nanopartikeln, hergestellt in entgastem Wasser.
Das Molverhältnis Cu:O₂ beträgt 1:0,074.



Anhang 13: Transmissionselektronenmikroskopbilder von Kupfer-Nanopartikeln, hergestellt in entgastem Wasser.
Das Molverhältnis Cu:O₂ beträgt 1:0,017.

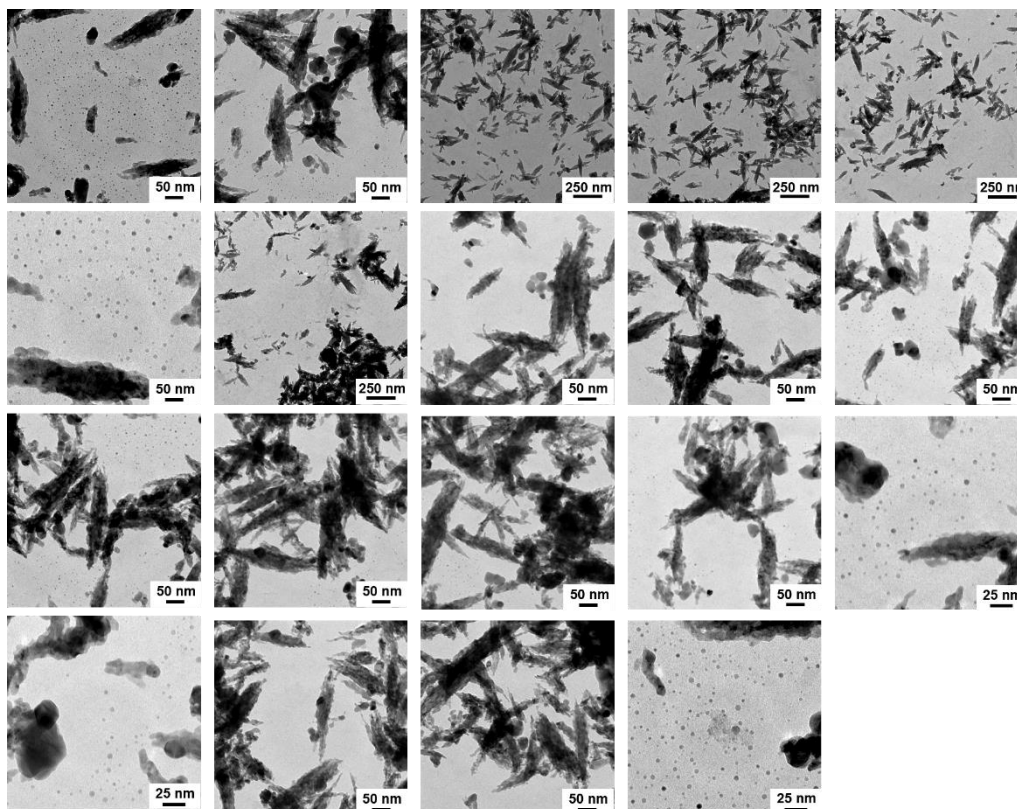


Anhang 14: Transmissionselektronenmikroskopbilder von Kupfer-Nanopartikeln, hergestellt in entgastem Wasser.
Das Molverhältnis Cu:O₂ beträgt 1:0,032.



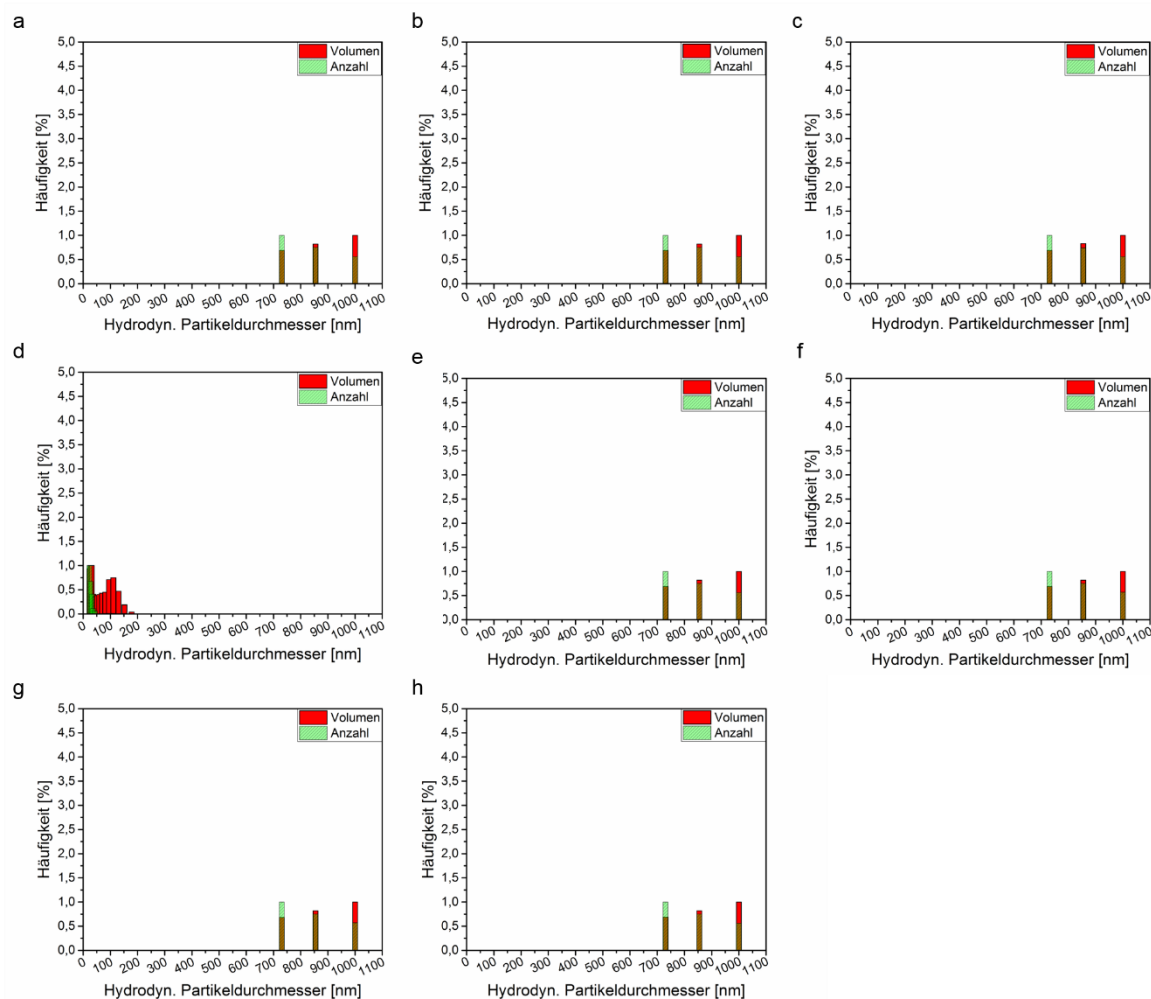
Anhang 15: Transmissionselektronenmikroskopbilder von Kupfer-Nanopartikeln, hergestellt in entgastem Wasser.

Das Molverhältnis Cu:O₂ beträgt 1:0,014.

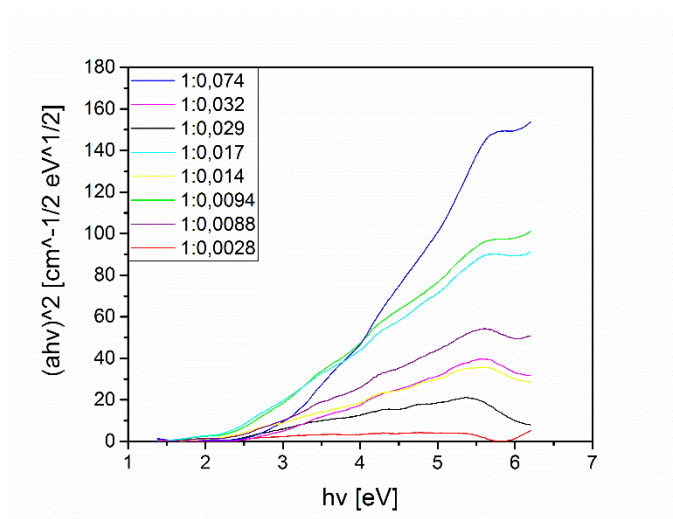


Anhang 16: Transmissionselektronenmikroskopbilder von Kupfer-Nanopartikeln, hergestellt in entgastem Wasser.

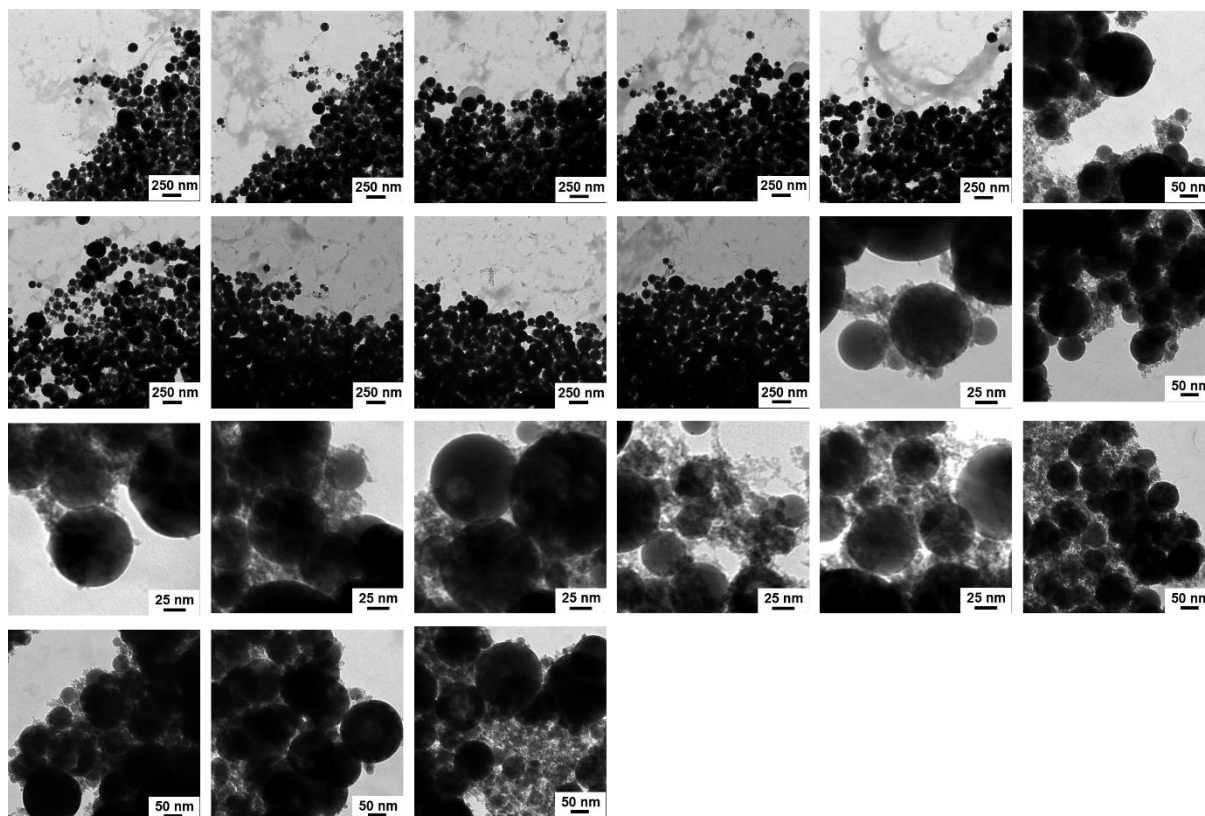
Das Molverhältnis Cu:O₂ beträgt 1:0,0088.



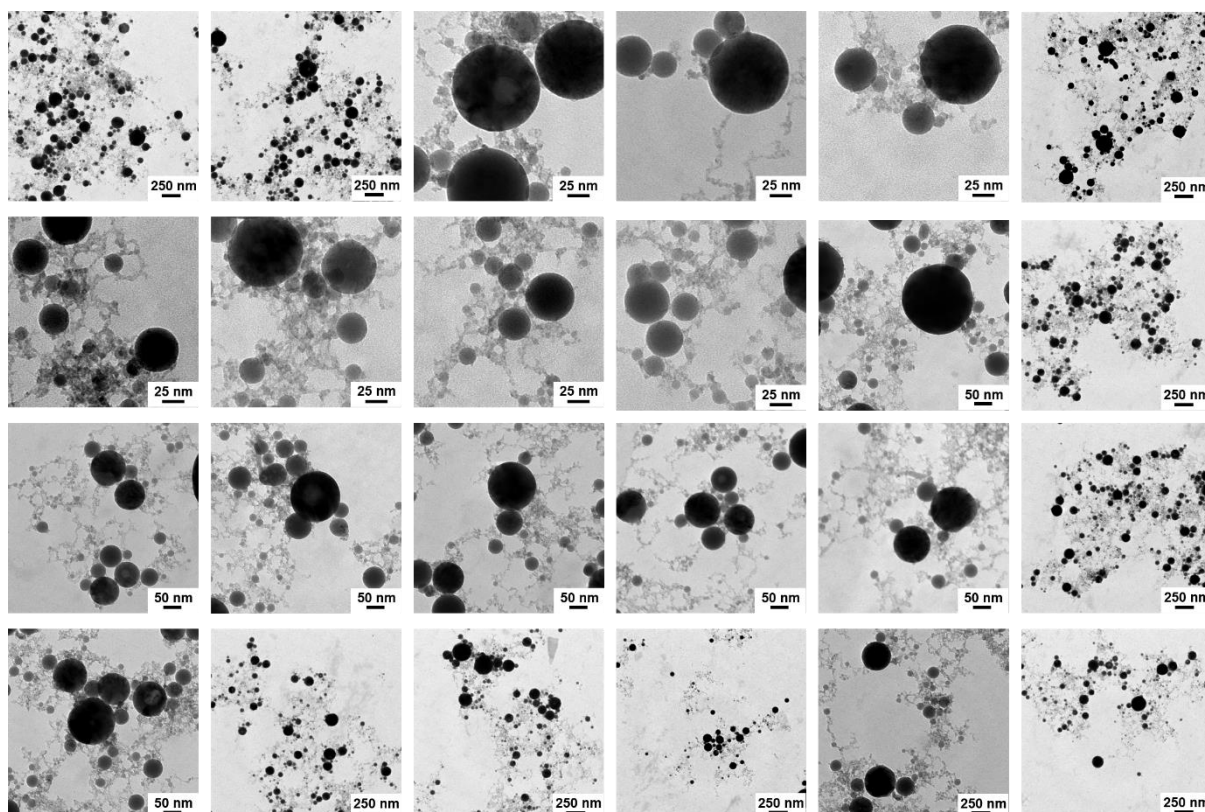
Anhang 17: Anzahl- und Volumenhäufigkeit des hydrodynamischen Partikeldurchmessers von Kupfer-Nanopartikeln, hergestellt in entgastem Wasser. Das Molverhältnis Cu:O₂ beträgt 1:0,029 (a), 1:0,0028 (b), 1:0,0094 (c), 1:0,074 (d), 1:0,017 (e), 1:0,032 (f), 1:0,014 (g) und 1:0,0088 (h).



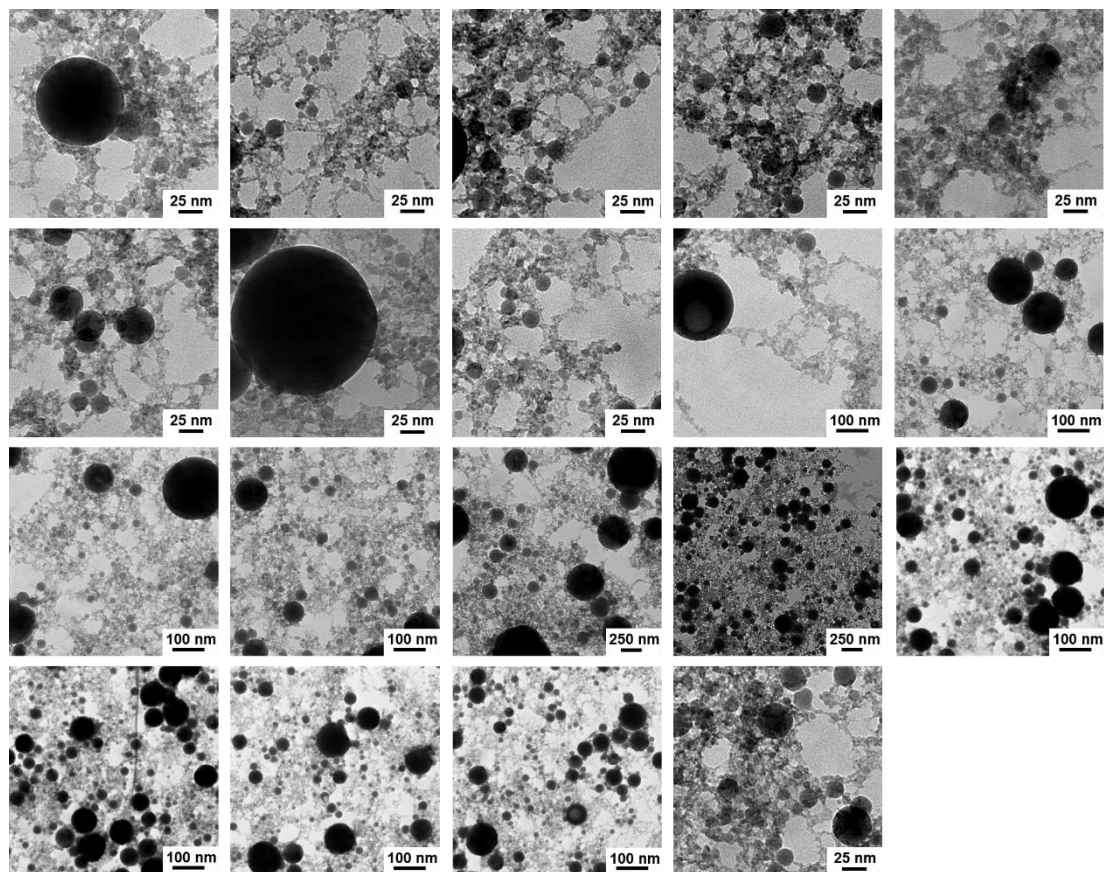
Anhang 18: Tauc-Plot erstellt aus UV/VIS-Spektren von Kupfer-Nanopartikeln, hergestellt in entgastem Wasser mit unterschiedlichen Molverhältnissen Cu:O₂.



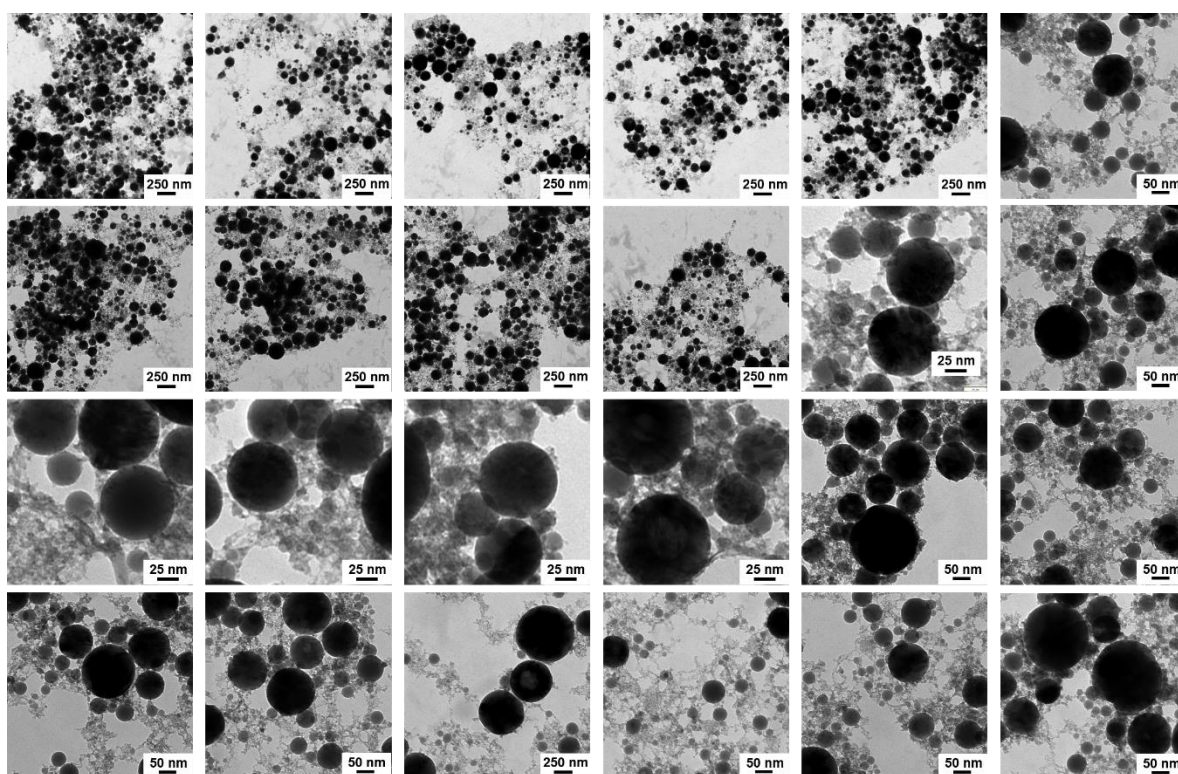
Anhang 19: Transmissionselektronenmikroskopbilder von Titan-Nanopartikeln, hergestellt in entgastem Wasser.
Das Molverhältnis $\text{Ti}:\text{O}_2$ beträgt 1:0,011.



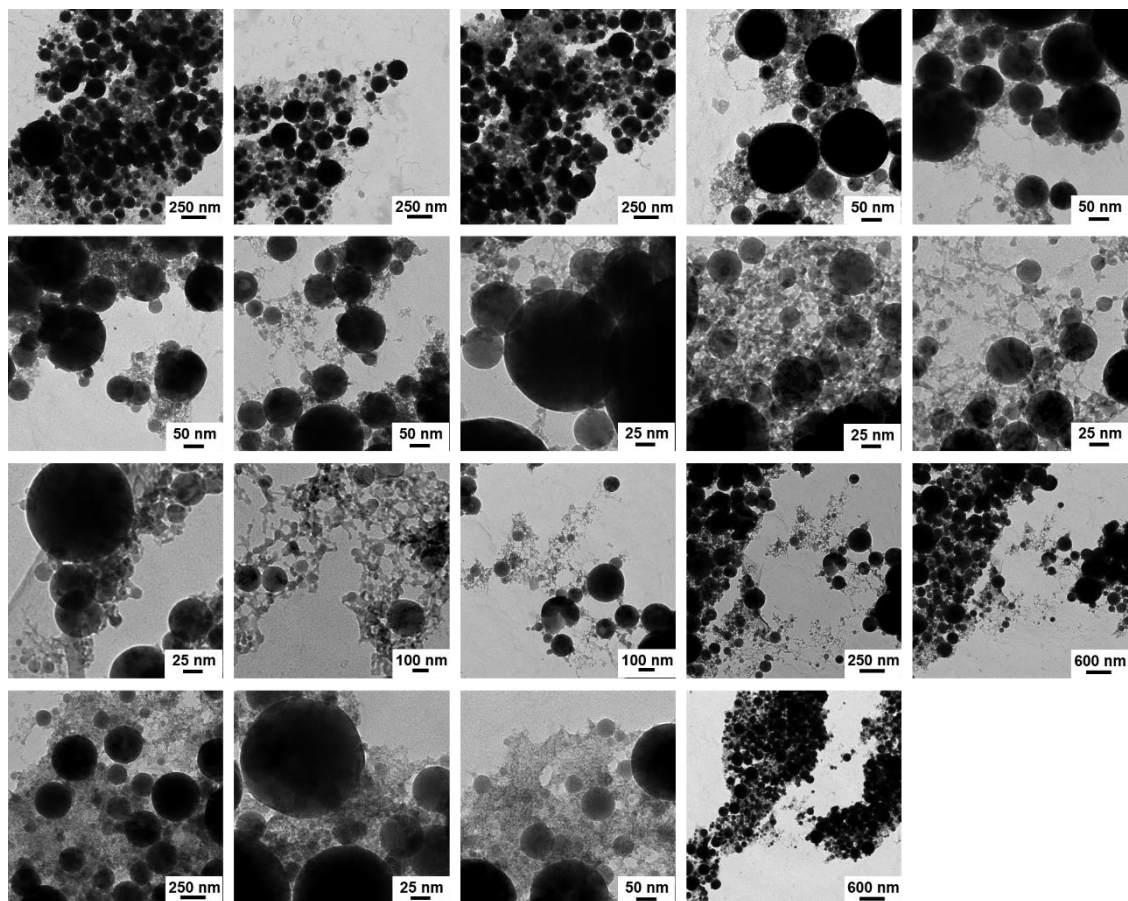
Anhang 20: Transmissionselektronenmikroskopbilder von Titan-Nanopartikeln, hergestellt in entgastem Wasser.
Das Molverhältnis $\text{Ti}:\text{O}_2$ beträgt 1:0,018.



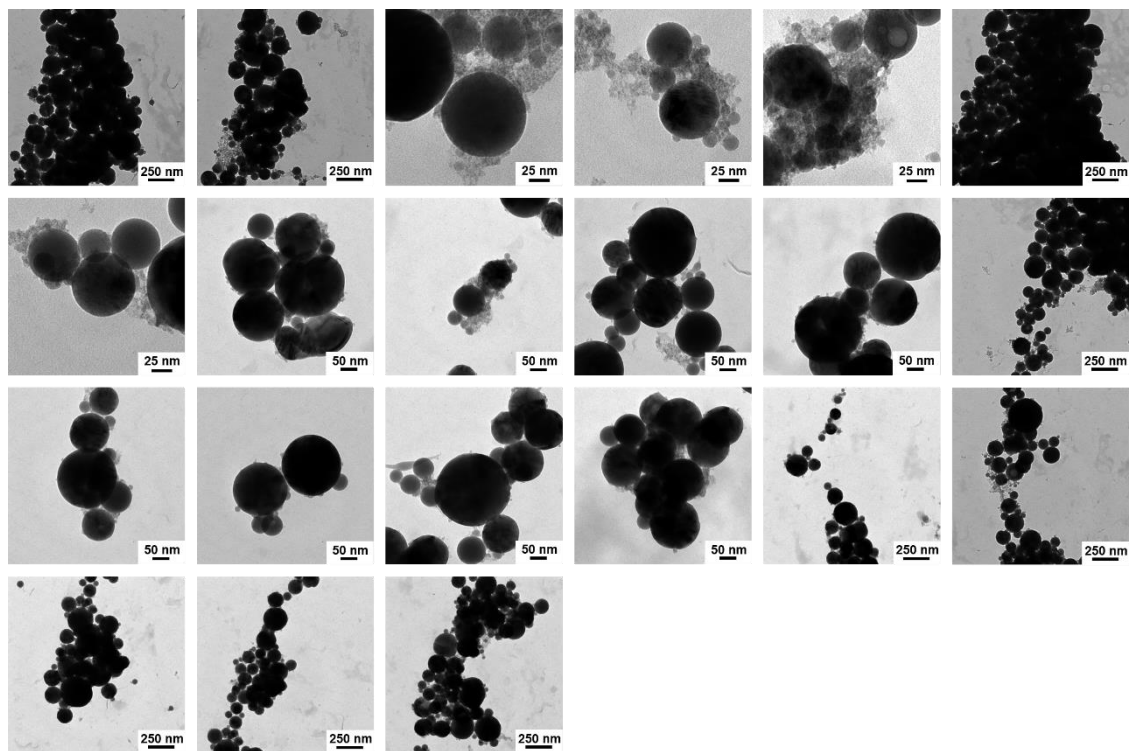
Anhang 21: Transmissionselektronenmikroskopbilder von Titan-Nanopartikeln, hergestellt in entgastem Wasser.
Das Molverhältnis $\text{Ti}:\text{O}_2$ beträgt 1:0,021.



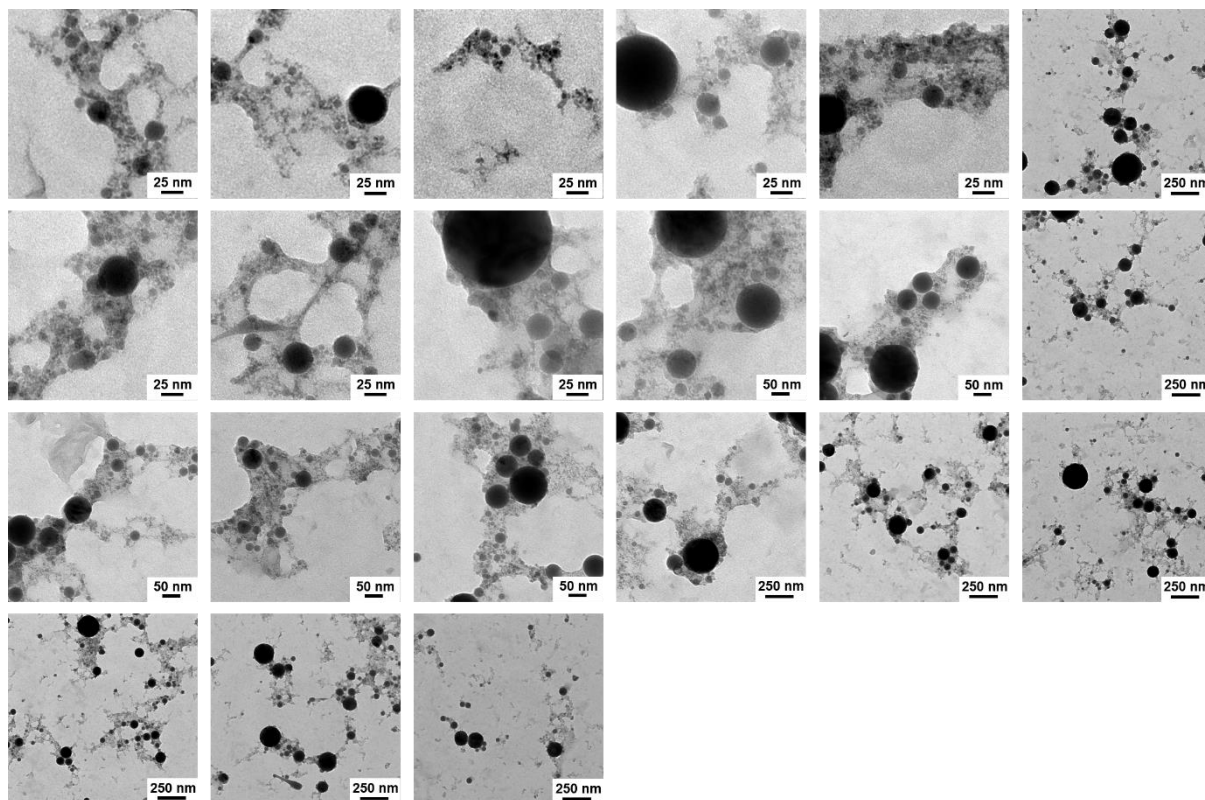
Anhang 22: Transmissionselektronenmikroskopbilder von Titan-Nanopartikeln, hergestellt in entgastem Wasser.
Das Molverhältnis $\text{Ti}:\text{O}_2$ beträgt 1:0,0022.



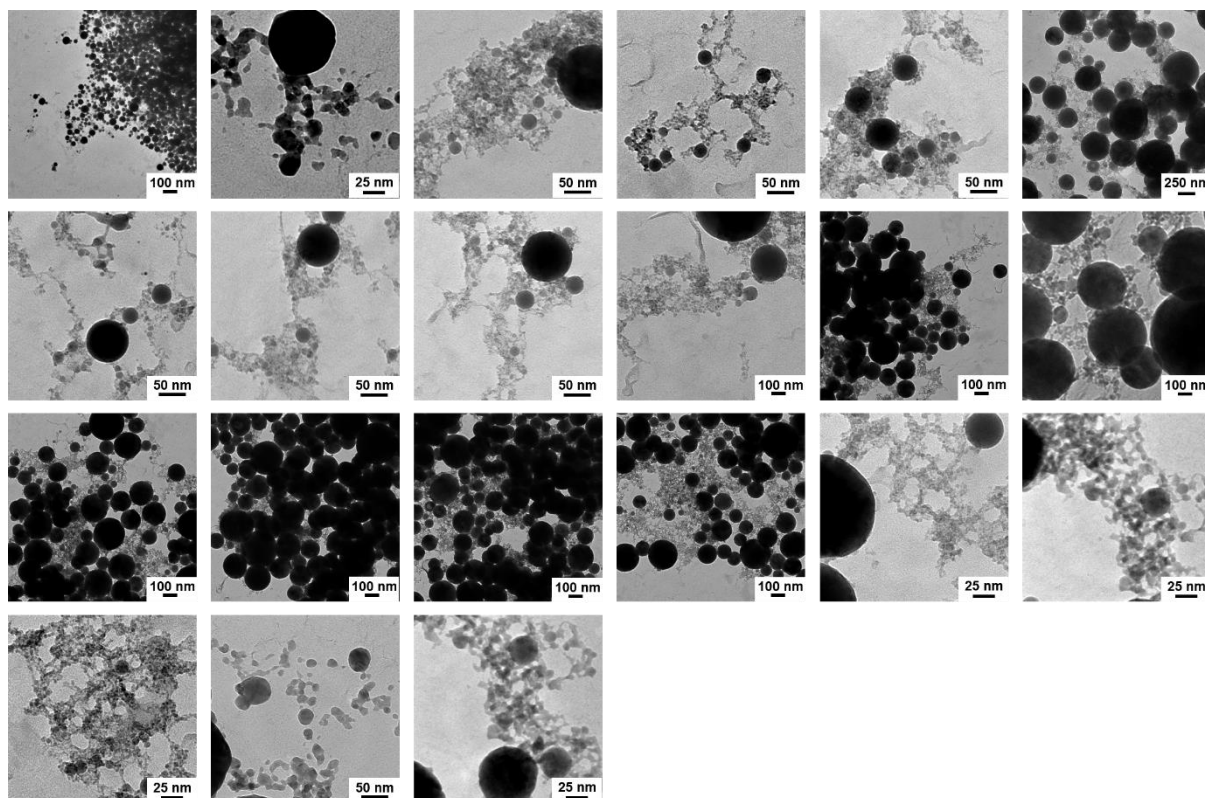
Anhang 23: Transmissionselektronenmikroskopbilder von Titan-Nanopartikeln, hergestellt in entgastem Wasser.
Das Molverhältnis $\text{Ti}:\text{O}_2$ beträgt 1:0,026.



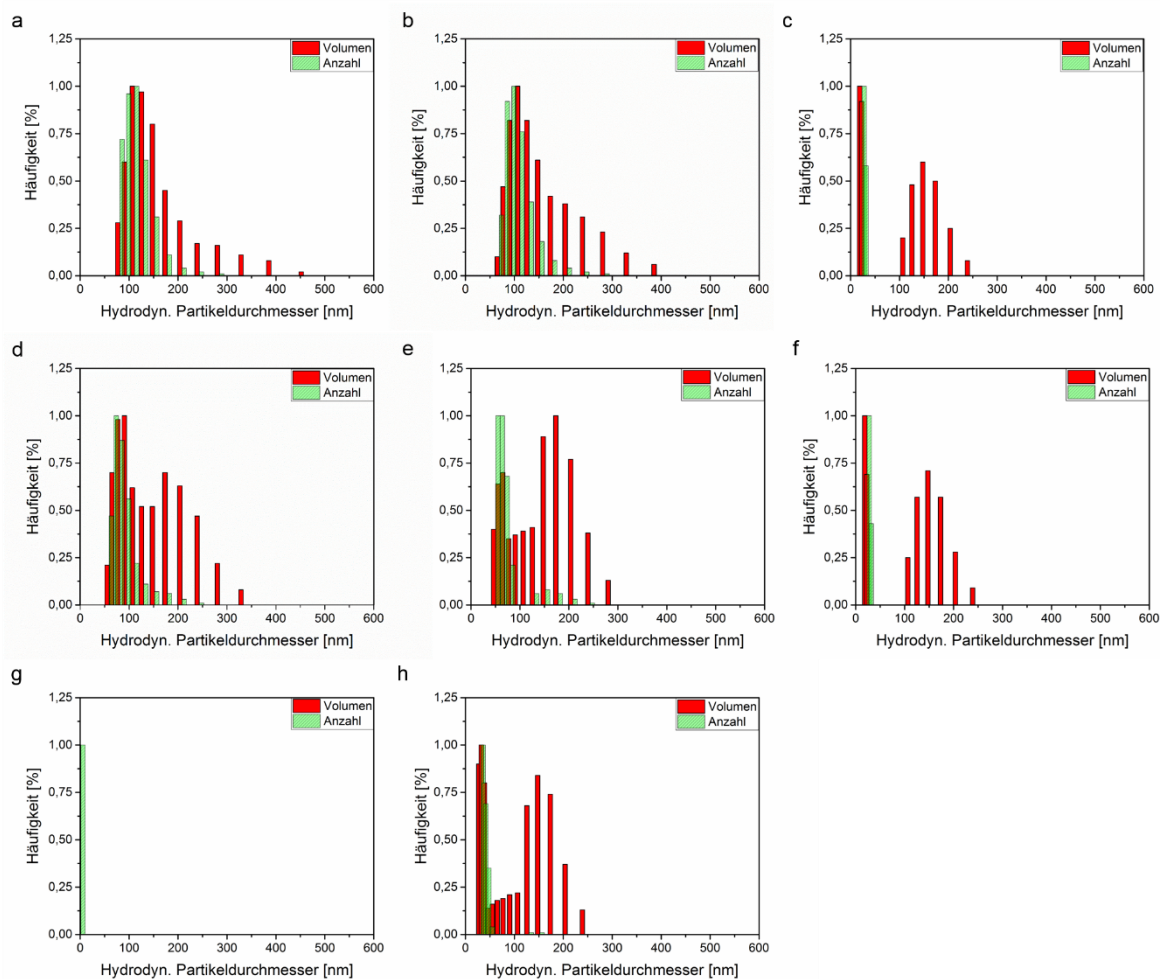
Anhang 24: Transmissionselektronenmikroskopbilder von Titan-Nanopartikeln, hergestellt in entgastem Wasser.
Das Molverhältnis $\text{Ti}:\text{O}_2$ beträgt 1:0,033.



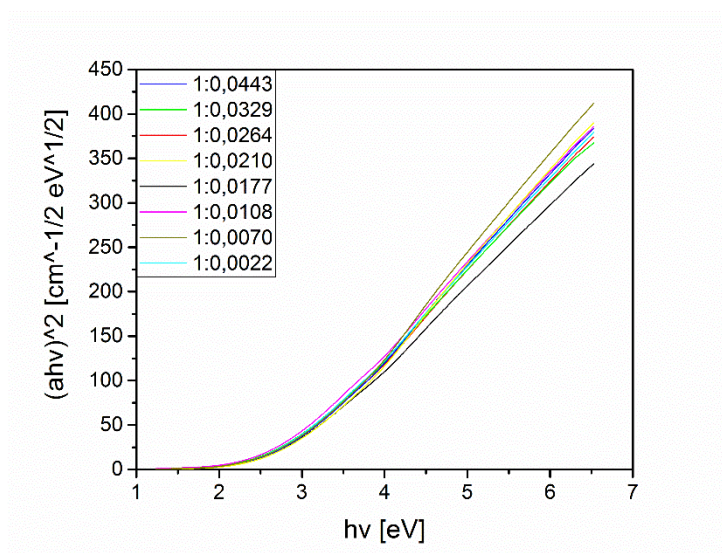
Anhang 25: Transmissionselektronenmikroskopbilder von Titan-Nanopartikeln, hergestellt in entgastem Wasser.
Das Molverhältnis $\text{Ti}:\text{O}_2$ beträgt 1:0,044.



Anhang 26: Transmissionselektronenmikroskopbilder von Titan-Nanopartikeln, hergestellt in entgastem Wasser.
Das Molverhältnis $\text{Ti}:\text{O}_2$ beträgt 1:0,0070.



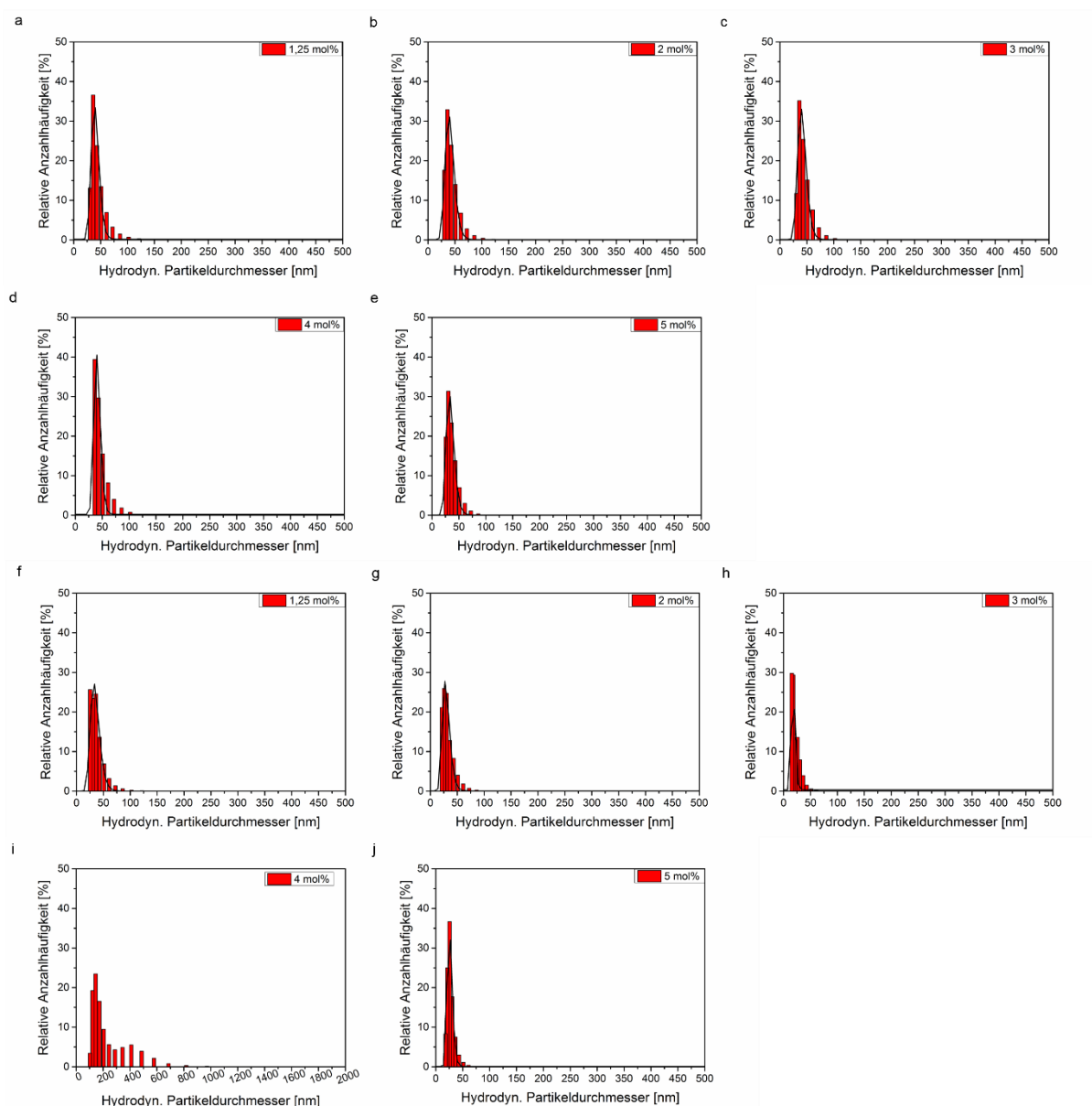
Anhang 27: Anzahl- und Volumenhäufigkeit des hydrodynamischen Partikeldurchmessers von Titan-Nanopartikeln, hergestellt in entgastem Wasser. Das Molverhältnis Ti:O₂ beträgt 1:0,018 (a), 1:0,026 (b), 1:0,033 (c), 1:0,044 (d), 1:0,0022 (e), 1:0,011 (f), 1:0,021 (g) und 1:0,0070 (h).



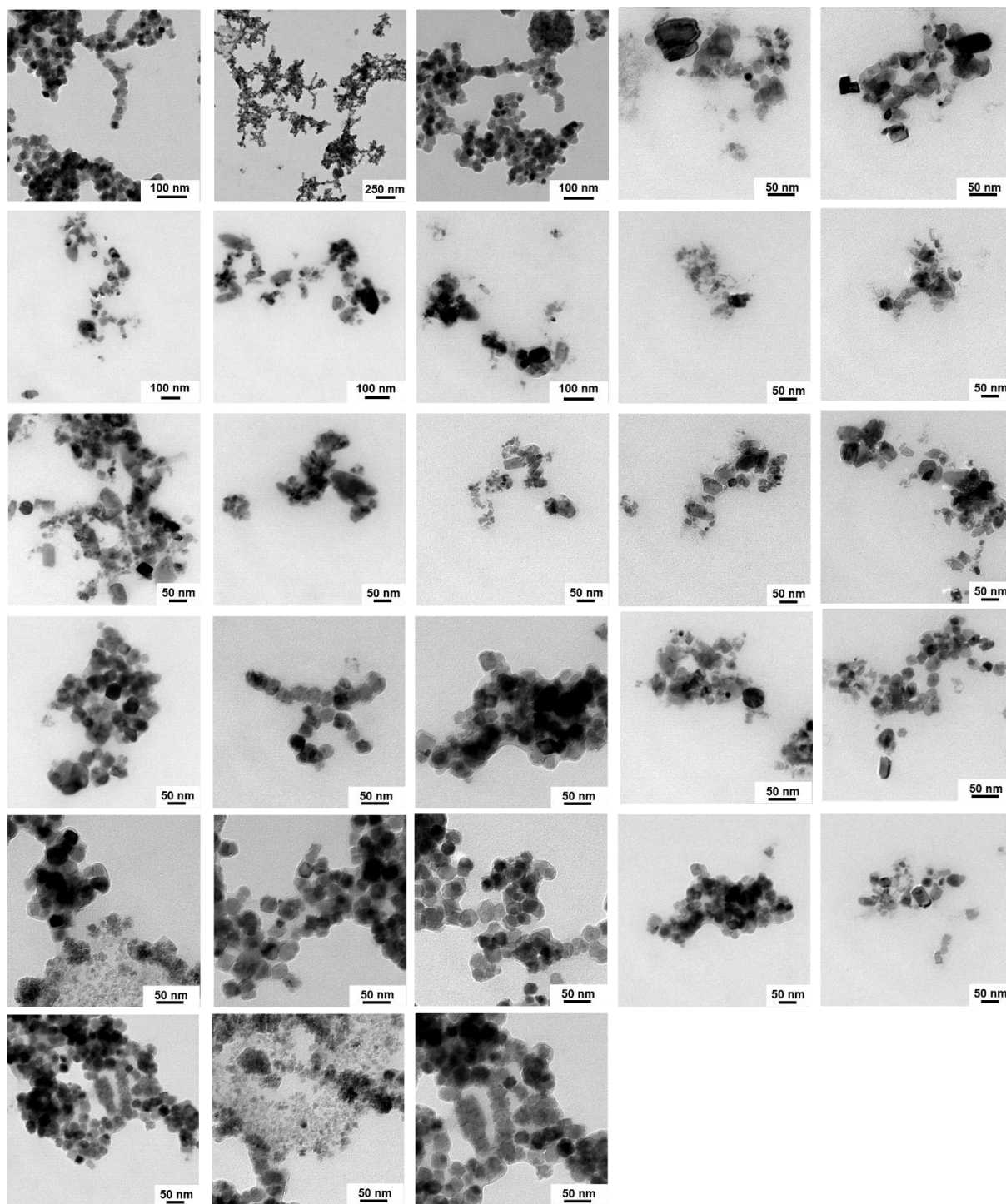
Anhang 28: Tauc-Plot erstellt aus UV/VIS-Spektren von Titan-Nanopartikeln, hergestellt in entgastem Wasser mit unterschiedlichen Molverhältnissen Ti:O₂.

9.4 Synthese von Ionenquellen: Herstellung und Charakterisierung

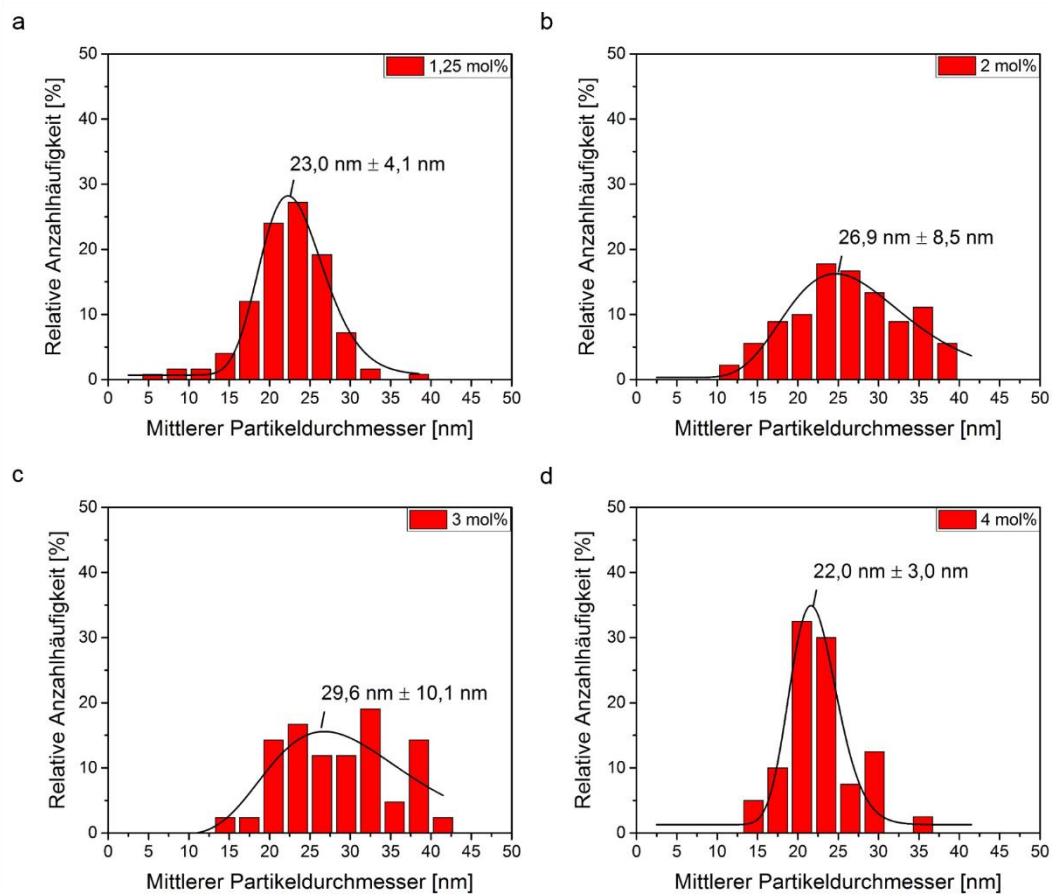
Poly-*N*-Vinylcaprolactam/Poly(ethylenglykol) methacrylat (PVCL/PEG-MA)



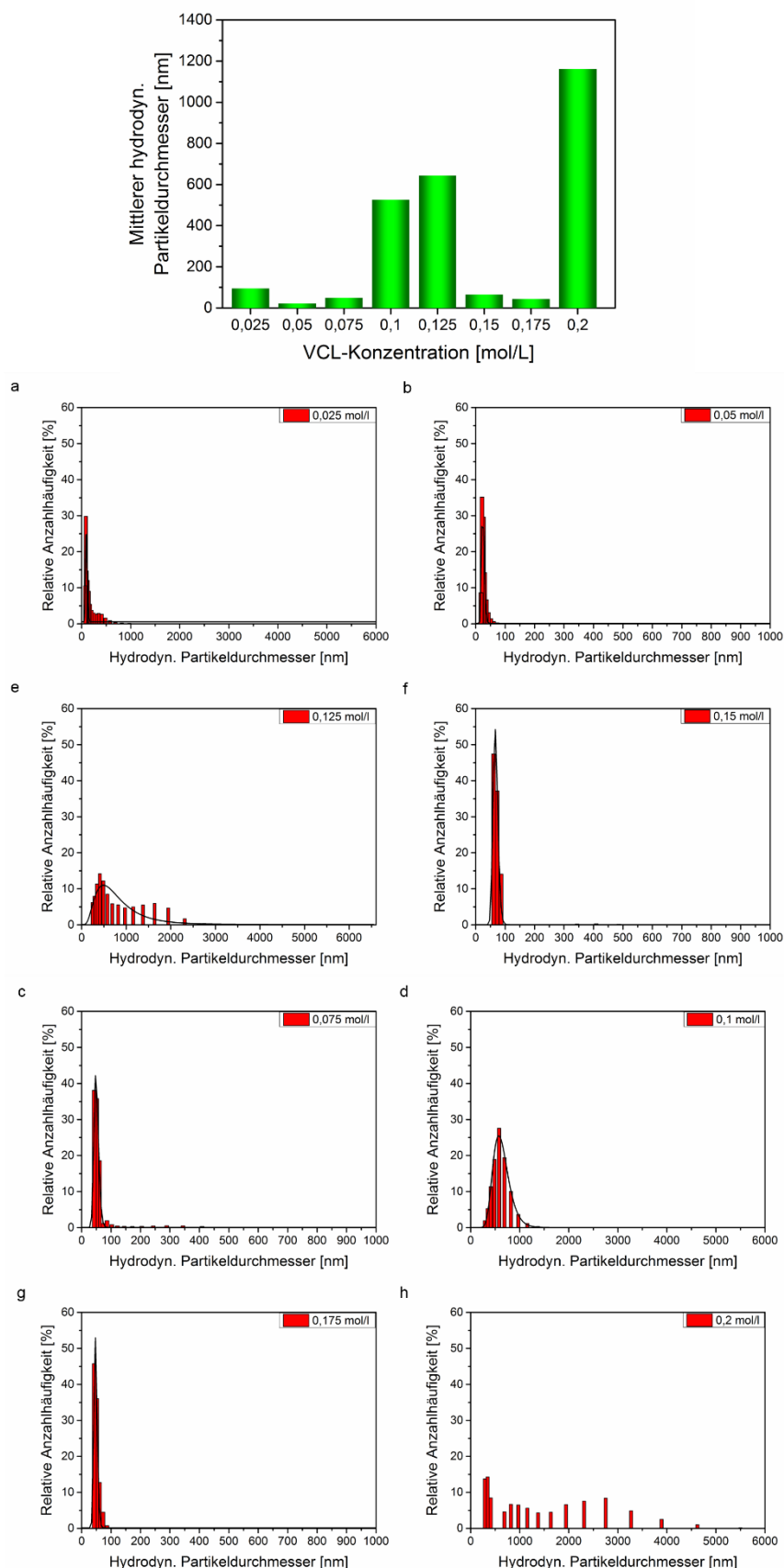
Anhang 29: Größenverteilung von PVCL/PEG-MA-Copolymeren beladen mit Eisen- (a-e) bzw. Zink-Nanopartikeln (f-j) bei unterschiedlichen PEG-MA-Konzentrationen, bestimmt mittels dynamischer Lichtstreuung.



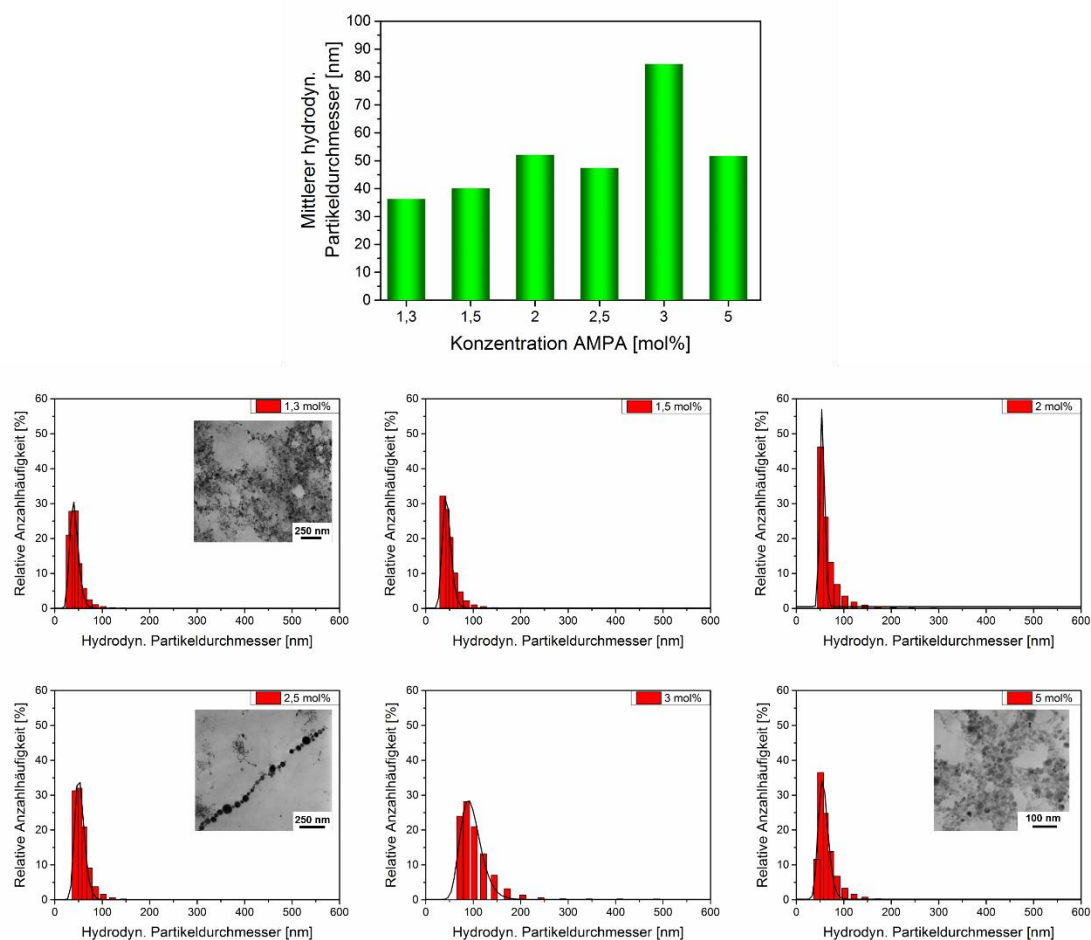
Anhang 30: Transmissionselektronenmikroskopbilder von PVCL/PEG-MA-Copolymeren beladen mit Zink-Nanopartikeln mit 5 mol% PEG-MA.



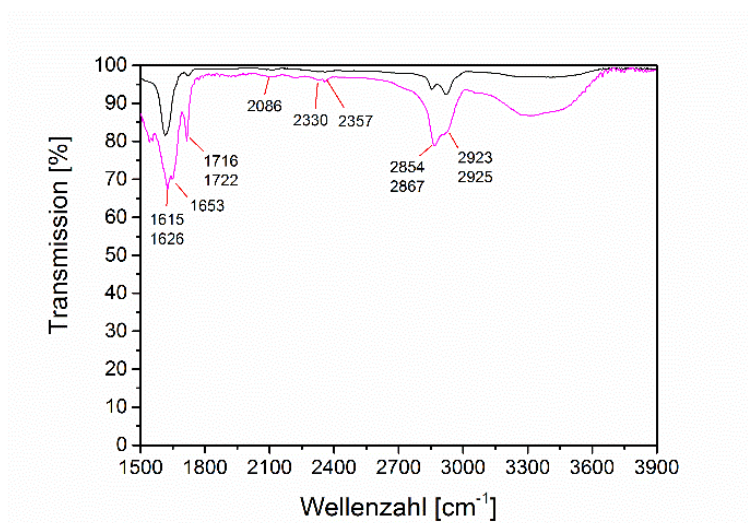
Anhang 31: Größenverteilung von PVCL/PEG-MA-Copolymeren beladen mit Eisen-Nanopartikeln bei unterschiedlichen PEG-MA-Konzentrationen. Die Auszählung erfolgte anhand von Transmissionselektronenmikroskopbildern.



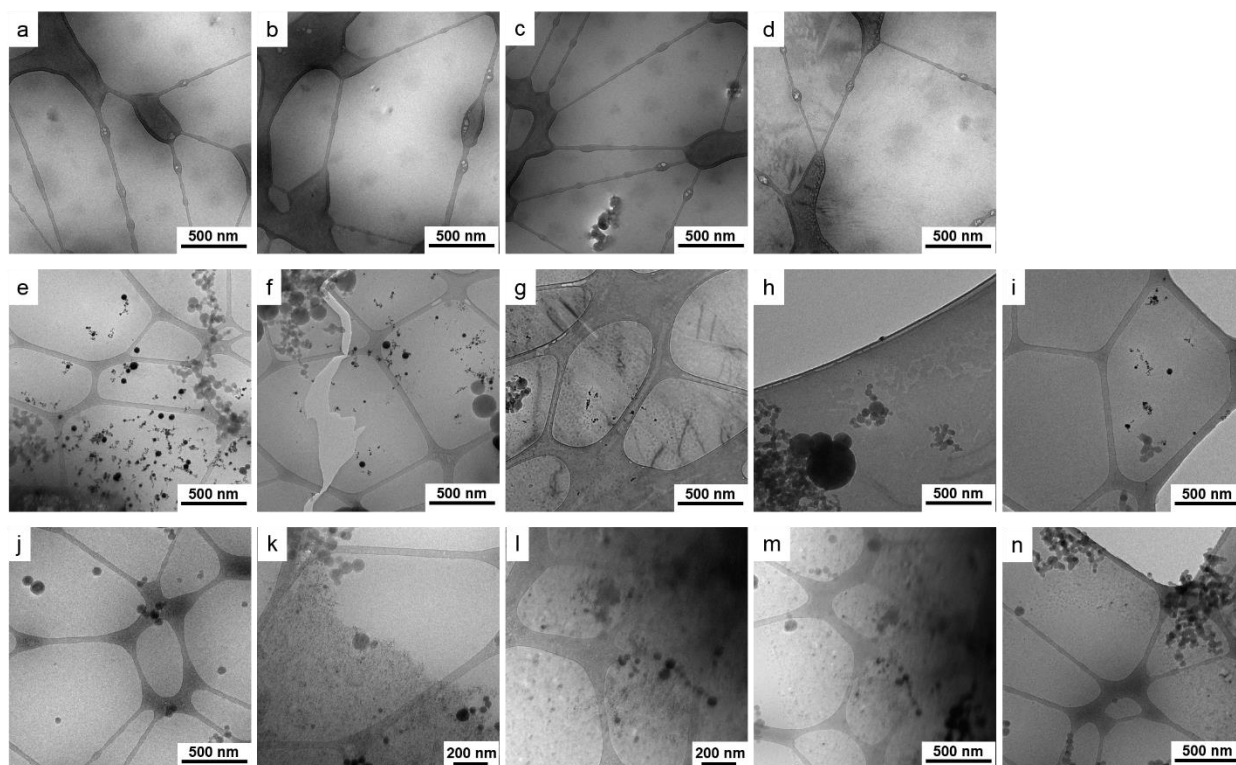
Anhang 32: Größenverteilung von PVCL/PEG-MA-Copolymeren beladen mit Zink-Nanopartikeln bei unterschiedlichen VCL-Konzentrationen (mit 5 mol/l PEG-MA), bestimmt mittels dynamischer Lichtstreuung.



Anhang 33: Größenverteilung von PVCL/PEG-MA-Copolymeren beladen mit Eisen-Nanopartikeln bei unterschiedlichen AMPA-Konzentrationen (mit 5 mol/l PEG-MA, 0,025 mol/l VCL), bestimmt mittels dynamischer Lichtstreuung.



Anhang 34: Infrarotspektroskopie (IR-Spektroskopie) eines PVCL/PEG-MA-Copolymers mit Kupfer-, Eisen- und Zink-Nanopartikeln (pink) im Vergleich zu einem unbeladenen PVCL/PEG-MA-Copolymer (grau).



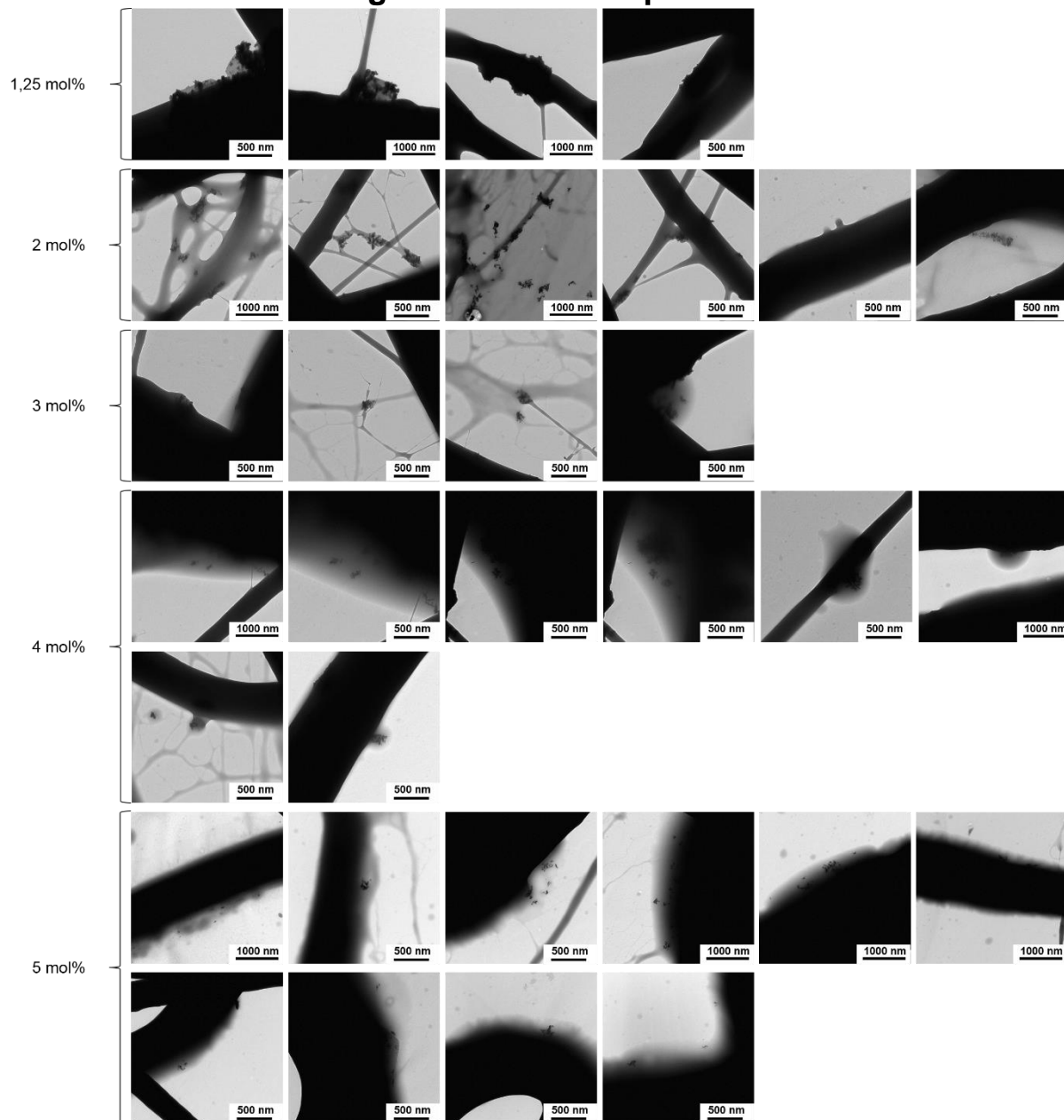
Anhang 35: Cryo-TEM-Aufnahmen von unbeladenem PVCL/PEG-MA-Copolymer (a-d) und PVCL/PEG-MA-Copolymer beladen mit Gold-Nanopartikeln (e-j) bzw. Eisen-Nanopartikeln (j-n). Die Herstellung der unbeladenen und Nanopartikel-beladenen Copolymere erfolgten durch M.Sc. Nina Million¹¹⁵, die Cryo-TEM-Aufnahmen wurden von M.Sc. Cathalina Molano¹¹⁶ erstellt.

¹¹⁵ Technische Chemie I, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Stephan Barcikowski

¹¹⁶ DWI - Leibniz-Institut für Interaktive Materialien und RWTH Aachen Universität, Leitung: Prof. Dr. Andrij Pich

9.5 Einfluss der Materialformulierung auf die Ionenfreisetzung

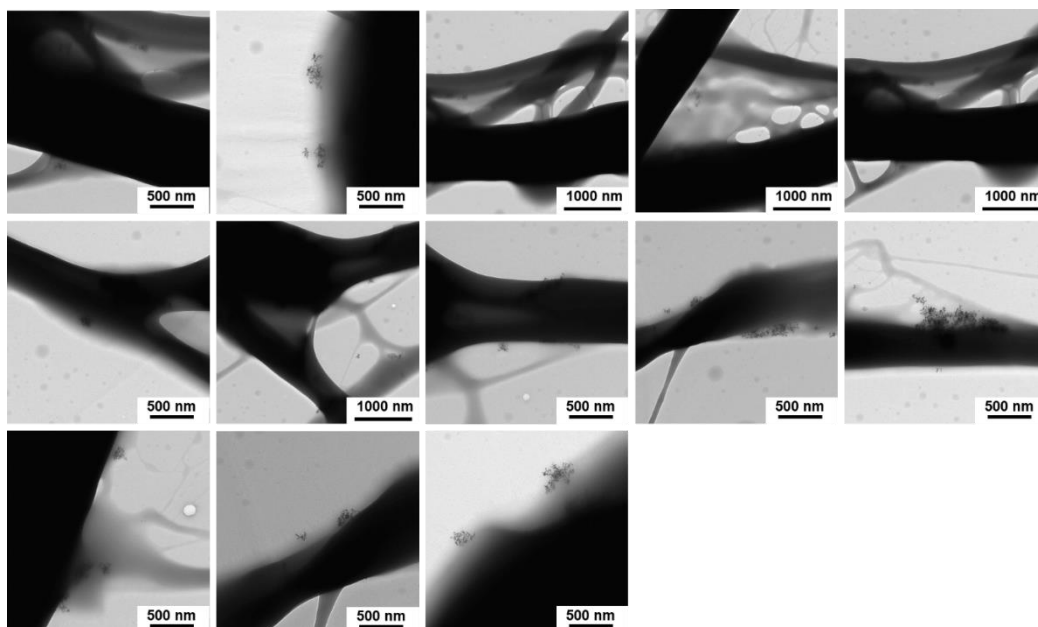
9.5.1 Weiterverarbeitung mittels Elektrosponnen



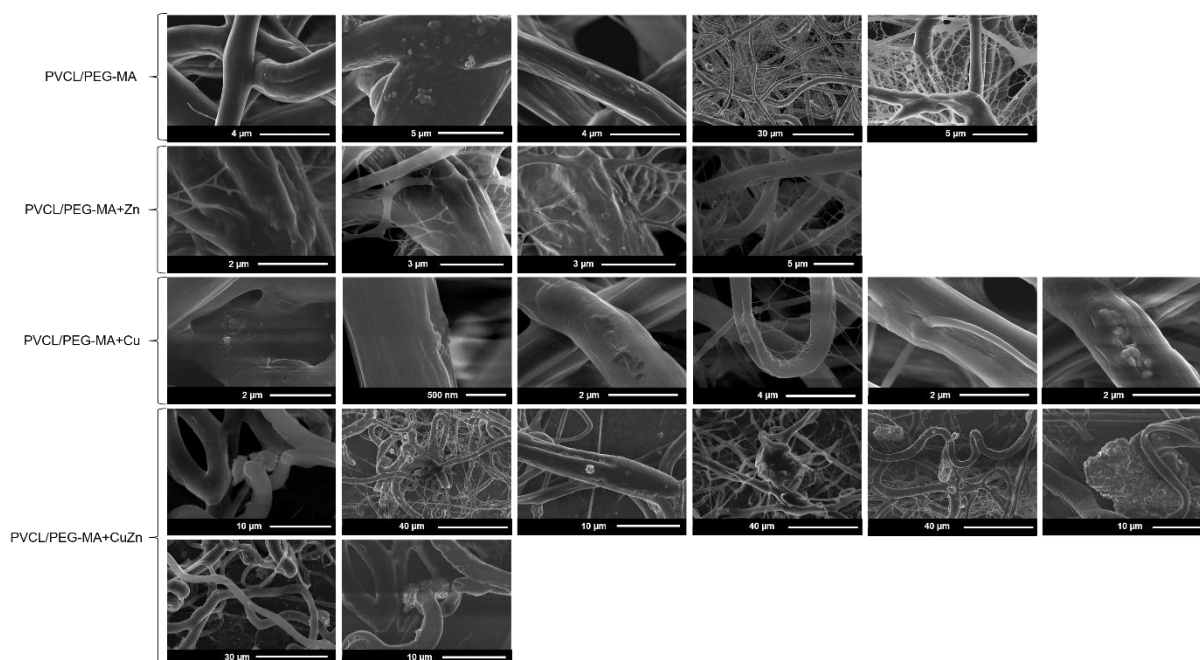
Anhang 36: Transmissionselektronenmikroskopbilder (TEM) von PCL Fasern, versponnen mit PVCL/PEG-MA Copolymeren unterschiedlicher Konzentration beladen mit Zink-Nanopartikeln. Die Herstellung der Polymere erfolgte durch M.Sc. Nina Million¹¹⁷. Das Verspinnen und die Untersuchung der Fasern mittels TEM wurde von Dr. Philipp Wilke¹¹⁸ durchgeführt.

¹¹⁷ Technische Chemie I, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Stephan Barcikowski

¹¹⁸ DWI - Leibniz-Institut für Interaktive Materialien und RWTH Aachen Universität, Leitung: Prof. Dr. Andrij Pich



Anhang 37: Transmissionselektronenmikroskopbilder (TEM) von PCL Fasern, versponnen mit PVCL/PEG-MA (5 mol%) Copolymeren beladen mit Eisen-Nanopartikeln. Die Herstellung der Polymere erfolgte durch M.Sc. Nina Million¹¹⁹. Das Verspinnen und die Untersuchung der Fasern mittels TEM wurde von Dr. Philipp Wilke¹²⁰ durchgeführt.



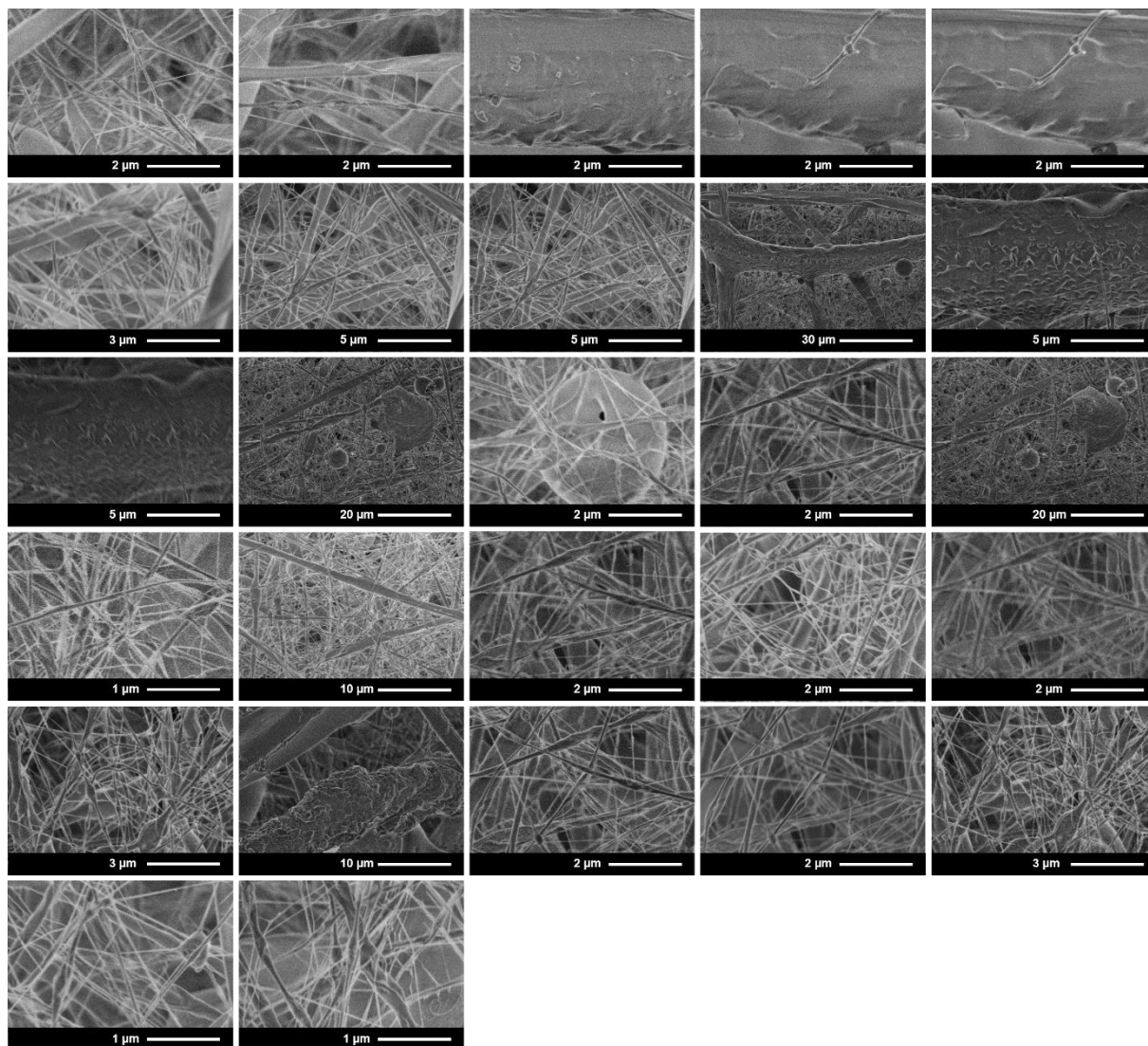
Anhang 38: Feldemissions Rasterelektronenmikroskopbilder (FESEM) von PCL Fasern, versponnen mit PVCL/PEG-MA (5 mol%) Copolymer mit und ohne Nanopartikel. Die Herstellung der Polymere erfolgte durch M.Sc. Nina Million¹²¹. Das Verspinnen und die Untersuchung der Fasern mittels FESEM wurde von M.Sc. Catalina Molano¹²² durchgeführt.

¹¹⁹ Technische Chemie I, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Stephan Barcikowski

¹²⁰ DWI - Leibniz-Institut für Interaktive Materialien und RWTH Aachen Universität, Leitung: Prof. Dr. Andrij Pich

¹²¹ Technische Chemie I, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Stephan Barcikowski

¹²² DWI - Leibniz-Institut für Interaktive Materialien und RWTH Aachen Universität, Leitung: Prof. Dr. Andrij Pich

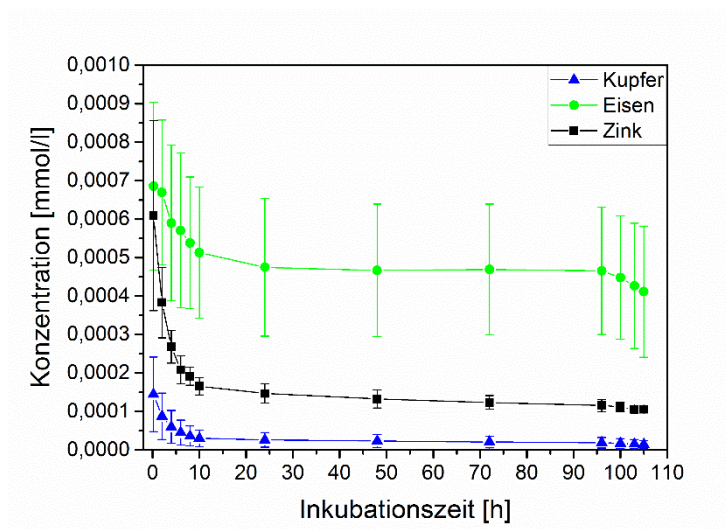


Anhang 39: Feldemissions Rasterelektronenmikroskopbilder (FESEM) von PCL Fasern, versponnen mit unbeladenen PVCL Mikrogelen. Die Herstellung der Polymere erfolgte durch M.Sc. Nina Million¹²³. Das Verspinnen und die Untersuchung der Fasern mittels FESEM wurde von Dr. Philipp Wilke¹²⁴ durchgeführt.

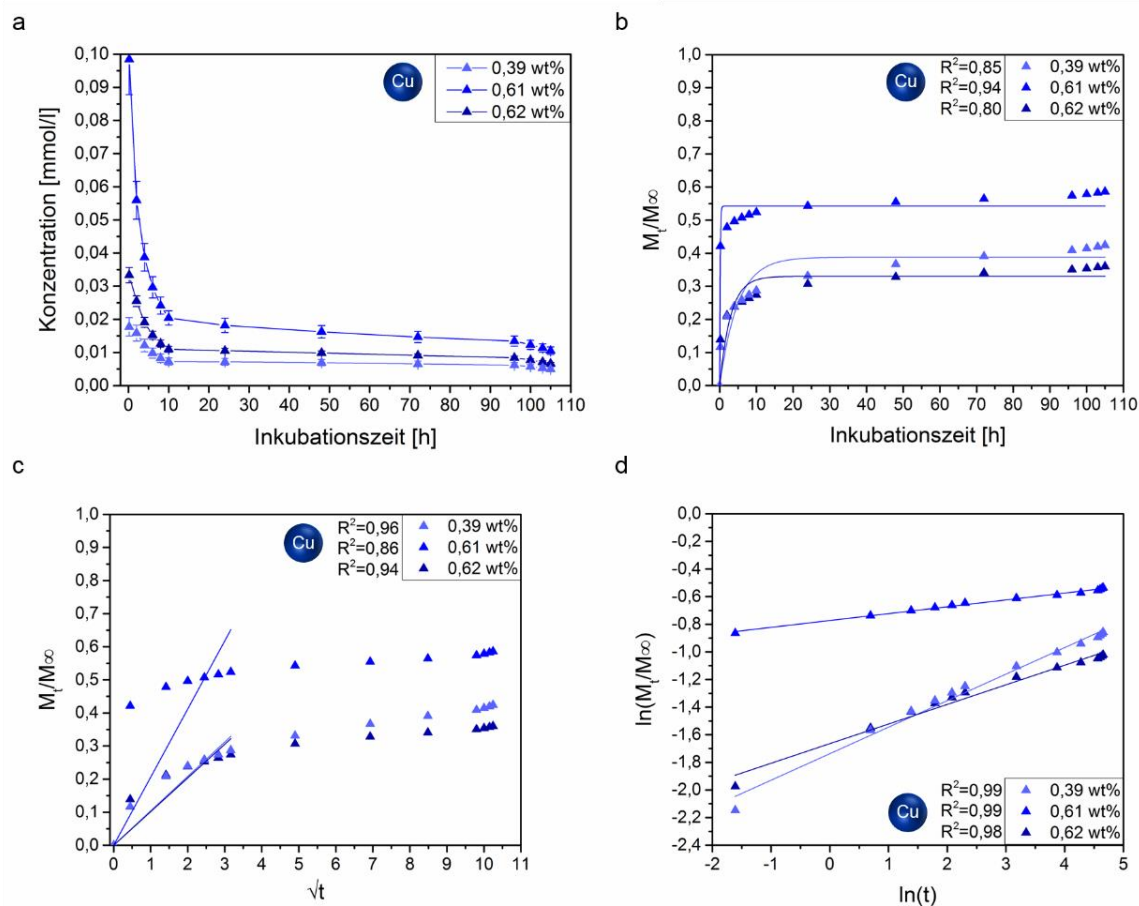
¹²³ Technische Chemie I, Universität Duisburg-Essen, Leitung: Prof. Dr. Stephan Barcikowski

¹²⁴ DWI - Leibniz-Institut für Interaktive Materialien und RWTH Aachen Universität, Leitung: Prof. Dr. Andrij Pich

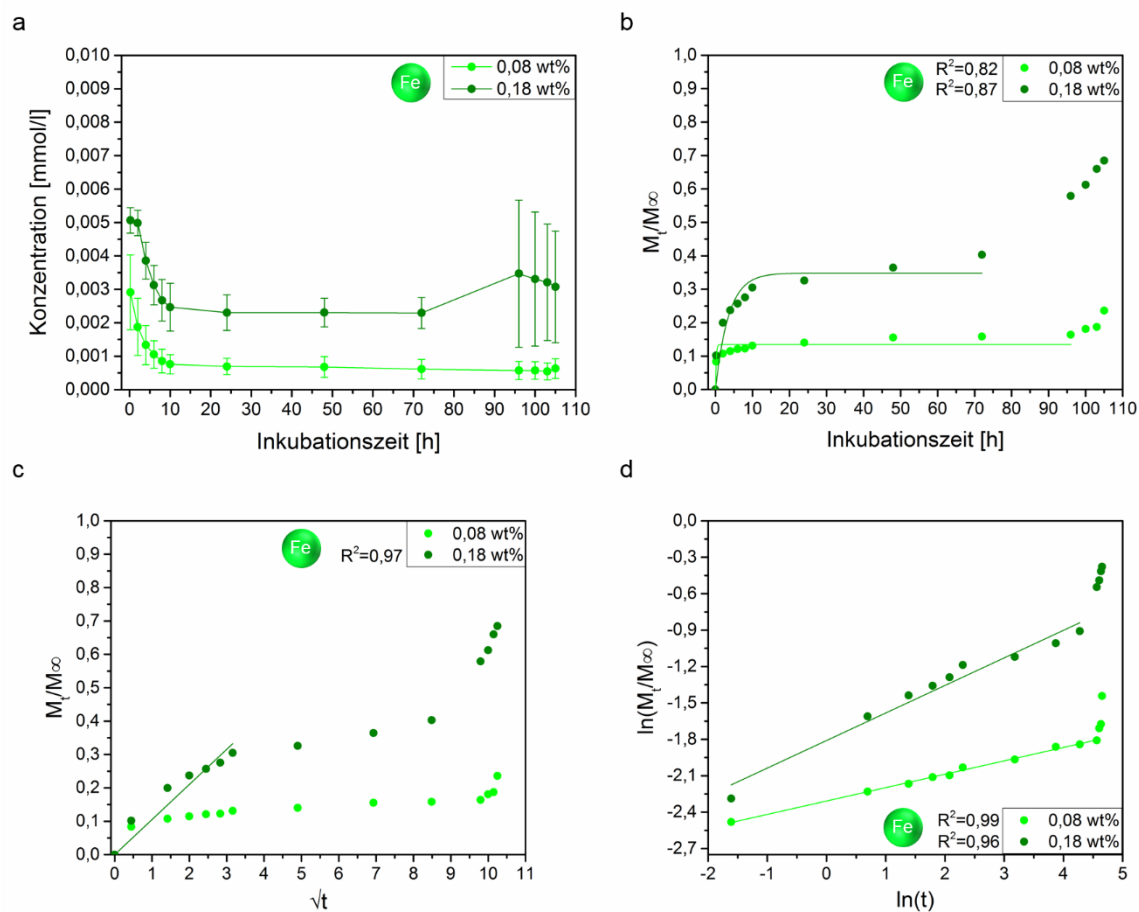
9.5.2 Variation der Beladung



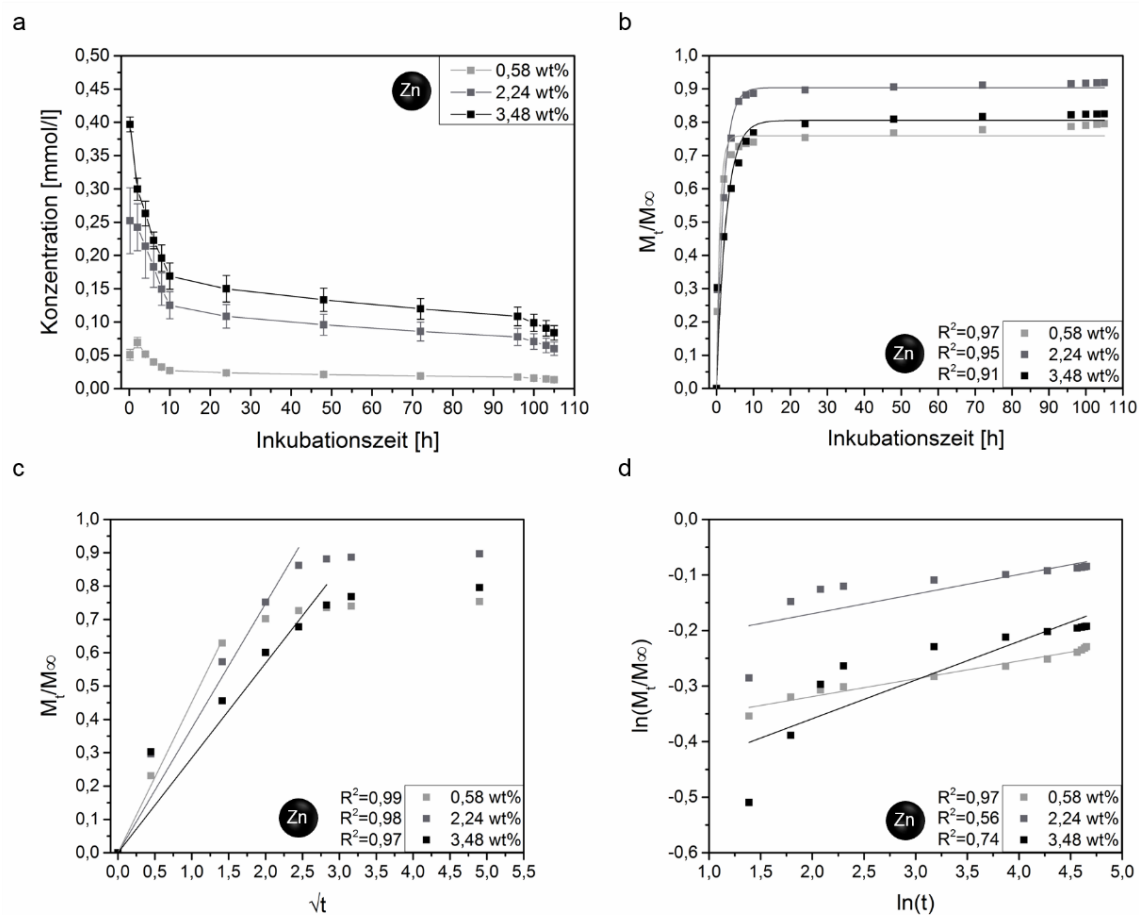
Anhang 40: Kumulative Ionenfreisetzungskonzentration aus Fasern mit unbeladenem PVCL/PEG-MA-Copolymer.



Anhang 41: Kumulative Ionenfreisetzung aus Fasern mit PVCL/PEG-MA-Copolymer, beladen mit Kupfer-Nanopartikeln in Abhängigkeit von der Beladung. Die resultierende Konzentration ist in a dargestellt. Die Kinetikbestimmung wurde durch Regressionen nach der Kinetik 1. Ordnung (b), nach dem Modell von Higuchi (c) und dem Modell von Korsmeyer-Peppas (d) durchgeführt.

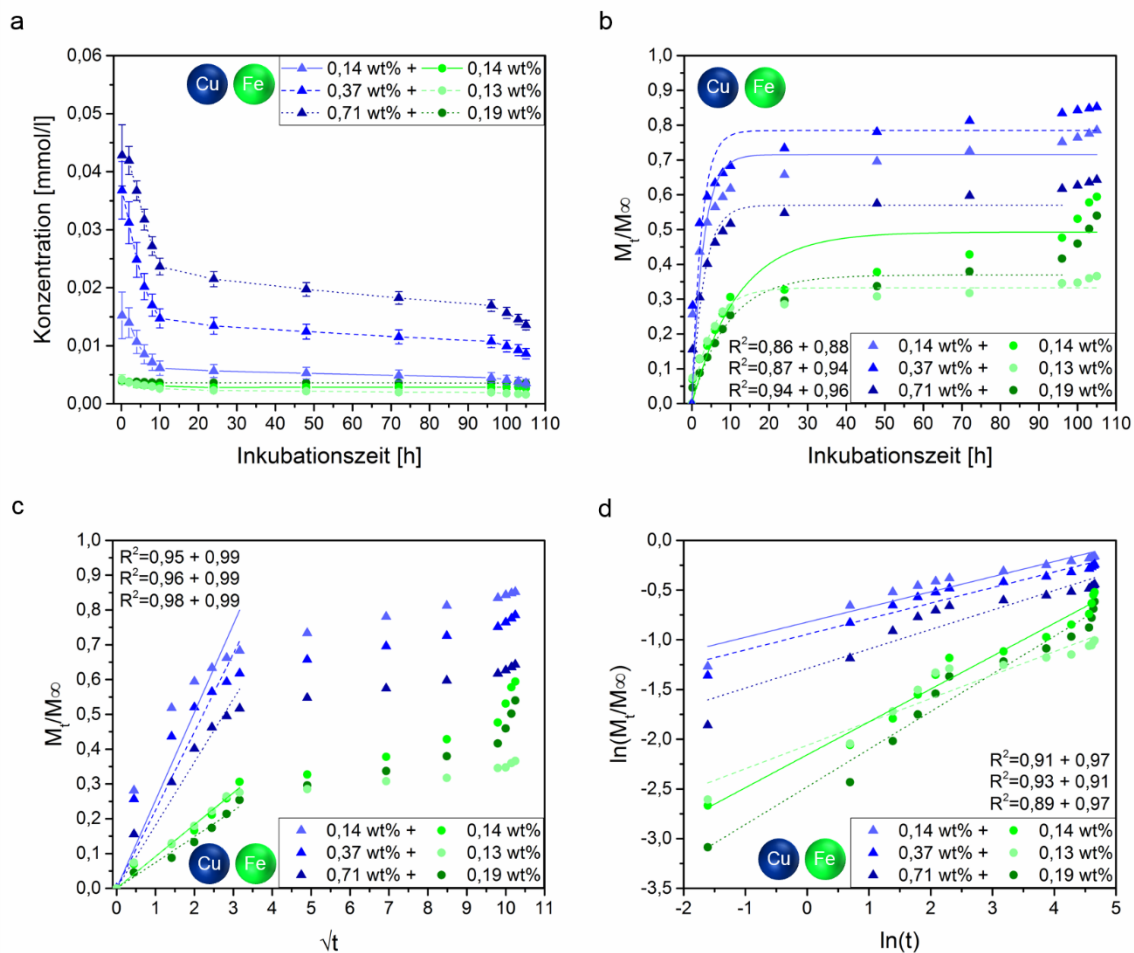


Anhang 42: Kumulative Ionenfreisetzung aus Fasern mit PVCL/PEG-MA-Copolymer, beladen mit Eisen-Nanopartikeln in Abhängigkeit von der Beladung. Die resultierende Konzentration ist in a dargestellt. Die Kinetikbestimmung wurde durch Regressionen nach der Kinetik 1. Ordnung (b), nach dem Modell von Higuchi (c) und dem Modell von Korsmeyer-Peppas (d) durchgeführt.

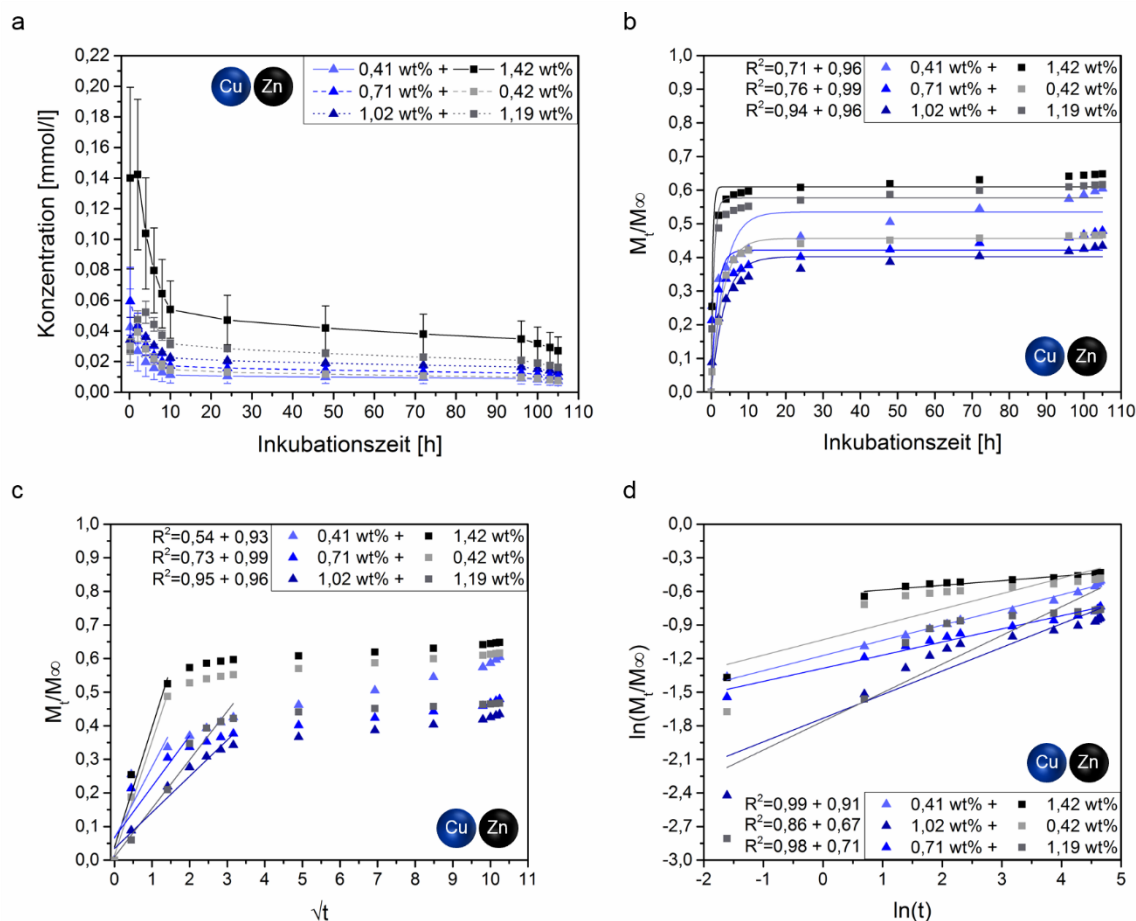


Anhang 43: Kumulative Ionenfreisetzung aus Fasern mit PVCL/PEG-MA-Copolymer, beladen mit Zink-Nanopartikeln in Abhängigkeit von der Beladung. Die resultierende Konzentration ist in a dargestellt. Die Kinetikbestimmung wurde durch Regressionen nach der Kinetik 1. Ordnung (b), nach dem Modell von Higuchi (c) und dem Modell von Korsmeyer-Peppas (d) durchgeführt.

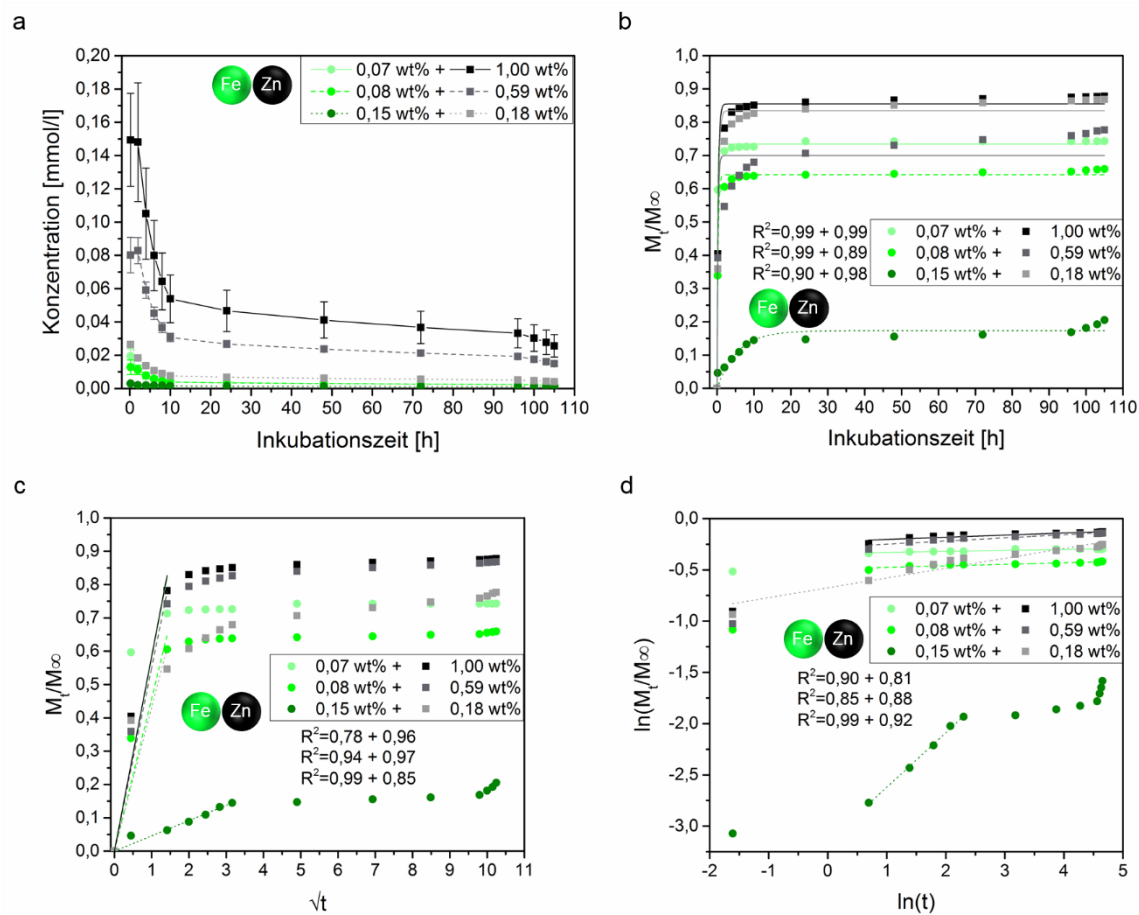
9.5.3 Multielemente



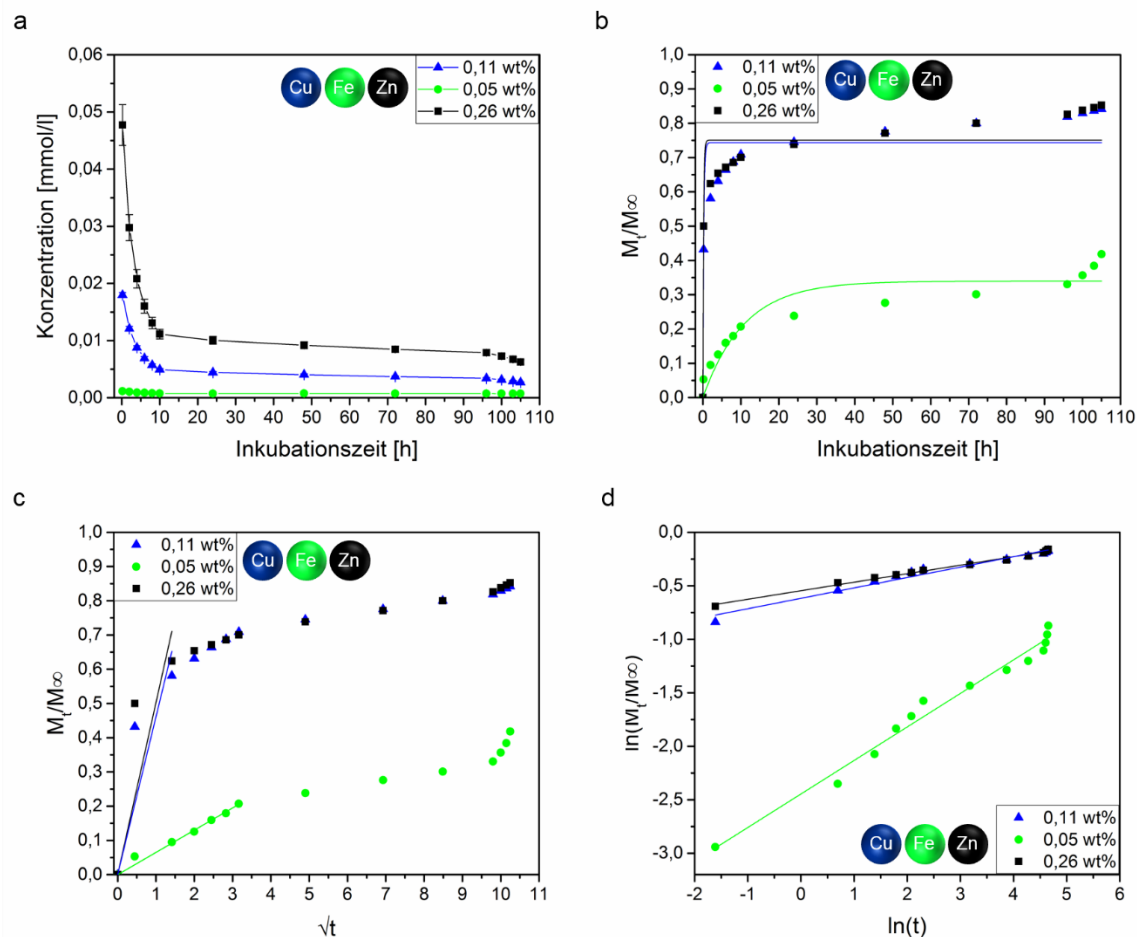
Anhang 44: Kumulative Ionenfreisetzung aus Fasern mit PVCL/PEG-MA-Copolymer, beladen mit Kupfer- und Eisen-Nanopartikeln in Abhängigkeit von der Beladung. Die resultierende Konzentration ist in a dargestellt. Die Kinetikbestimmung wurde durch Regressionen nach der Kinetik 1. Ordnung (b), nach dem Modell von Higuchi (c) und dem Modell von Korsmeyer-Peppas (d) durchgeführt.



Anhang 45: Kumulative Ionenfreisetzung aus Fasern mit PVCL/PEG-MA-Copolymer, beladen mit Kupfer- und Zink-Nanopartikeln in Abhängigkeit von der Beladung. Die resultierende Konzentration ist in a dargestellt. Die Kinetikbestimmung wurde durch Regressionen nach der Kinetik 1. Ordnung (b), nach dem Modell von Higuchi (c) und dem Modell von Korsmeyer-Peppas (d) durchgeführt.



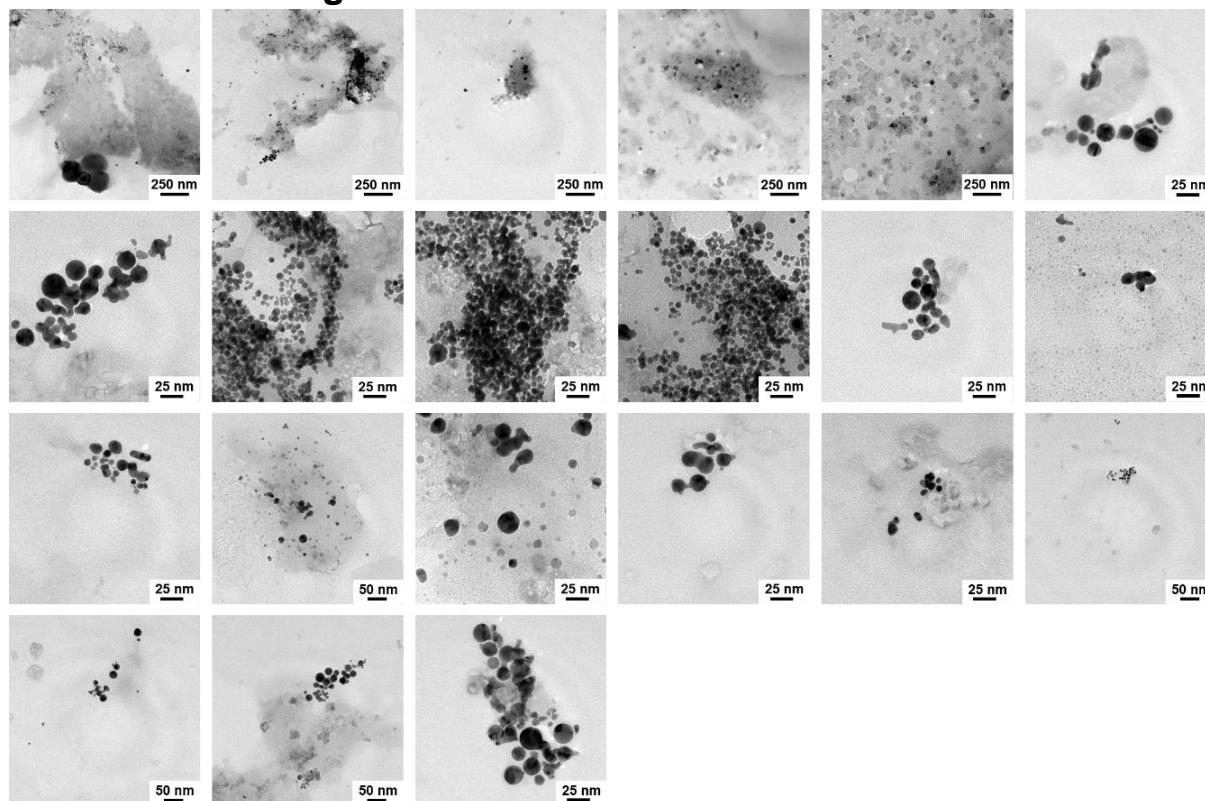
Anhang 46: Kumulative Ionenfreisetzung aus Fasern mit PVCL/PEG-MA-Copolymer, beladen mit Eisen- und Zink-Nanopartikeln in Abhängigkeit von der Beladung. Die resultierende Konzentration ist in a dargestellt. Die Kinetikbestimmung wurde durch Regressionen nach der Kinetik 1. Ordnung (b), nach dem Modell von Higuchi (c) und dem Modell von Korsmeyer-Peppas (d) durchgeführt.



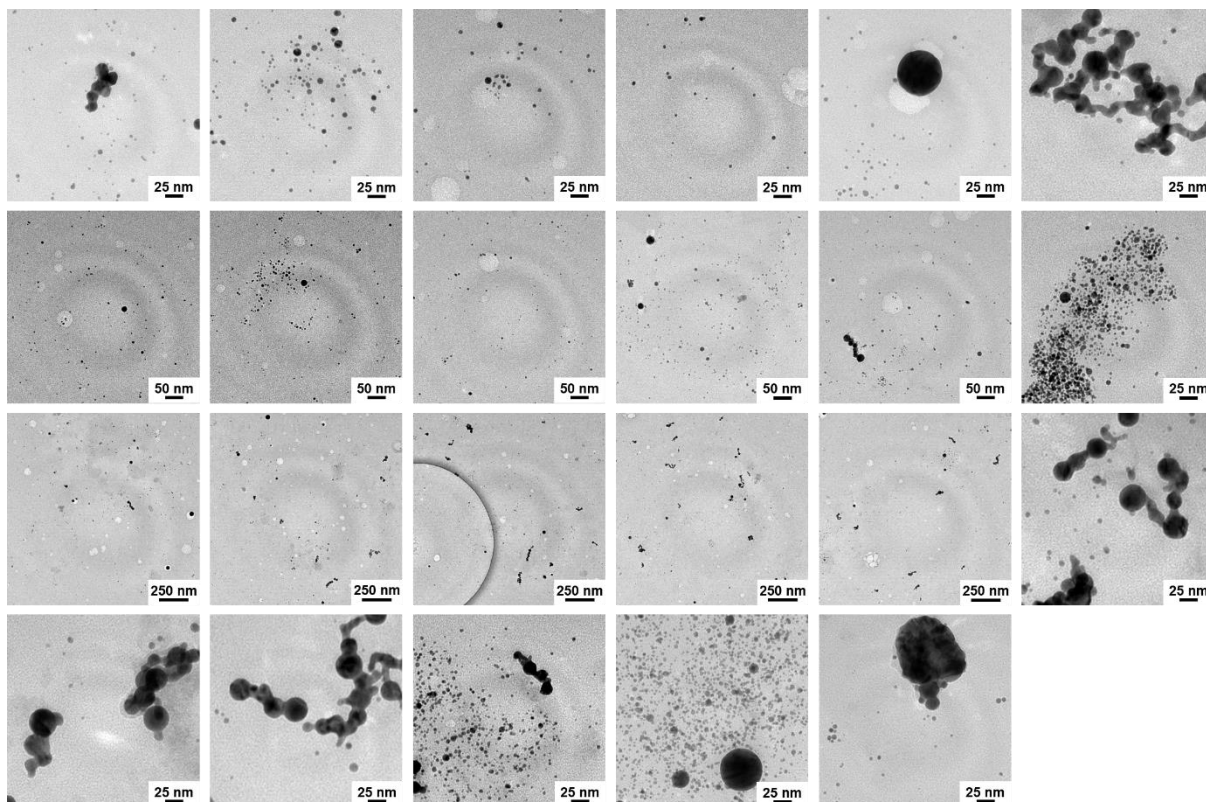
Anhang 47: Kumulative Ionenfreisetzung aus Fasern mit PVCL/PEG-MA-Copolymer, beladen mit Kupfer-, Eisen- und Zink-Nanopartikeln in Abhängigkeit von der Beladung. Die resultierende Konzentration ist in a dargestellt. Die Kinetikbestimmung wurde durch Regressionen nach der Kinetik 1. Ordnung (b), nach dem Modell von Higuchi (c) und dem Modell von Korsmeyer-Peppas (d) durchgeführt.

9.6 Weitere Anwendungsmöglichkeiten von Ionenfreisetzungssystemen

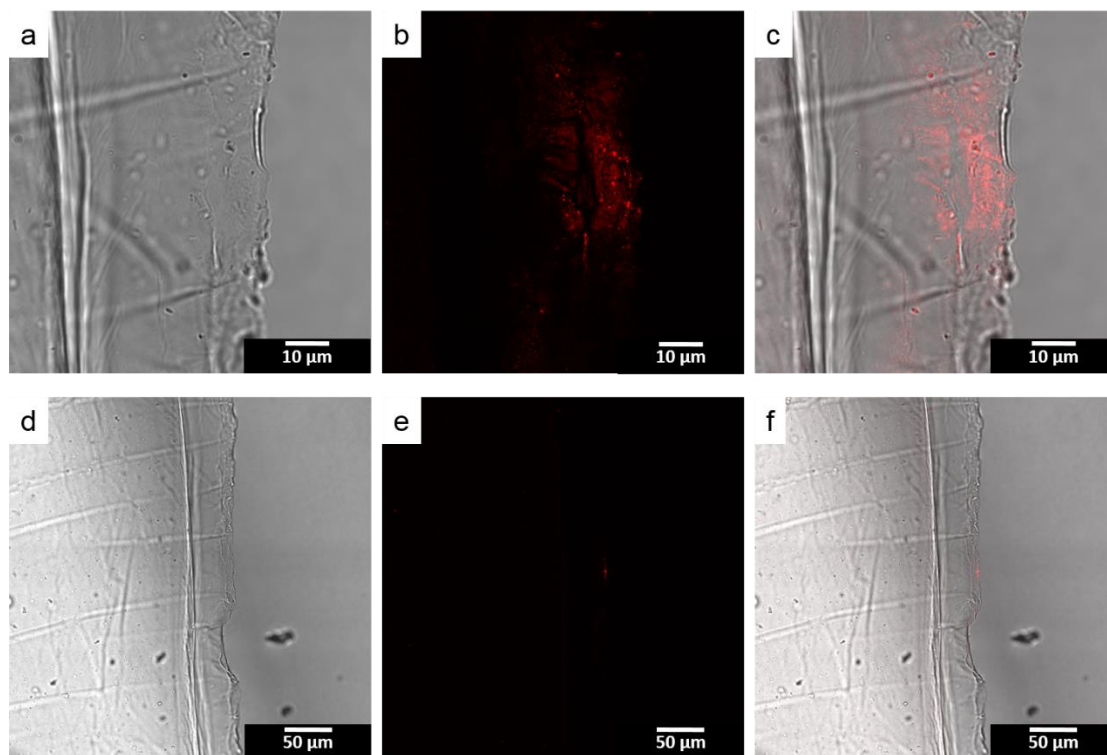
9.6.1 Gefäßbildung



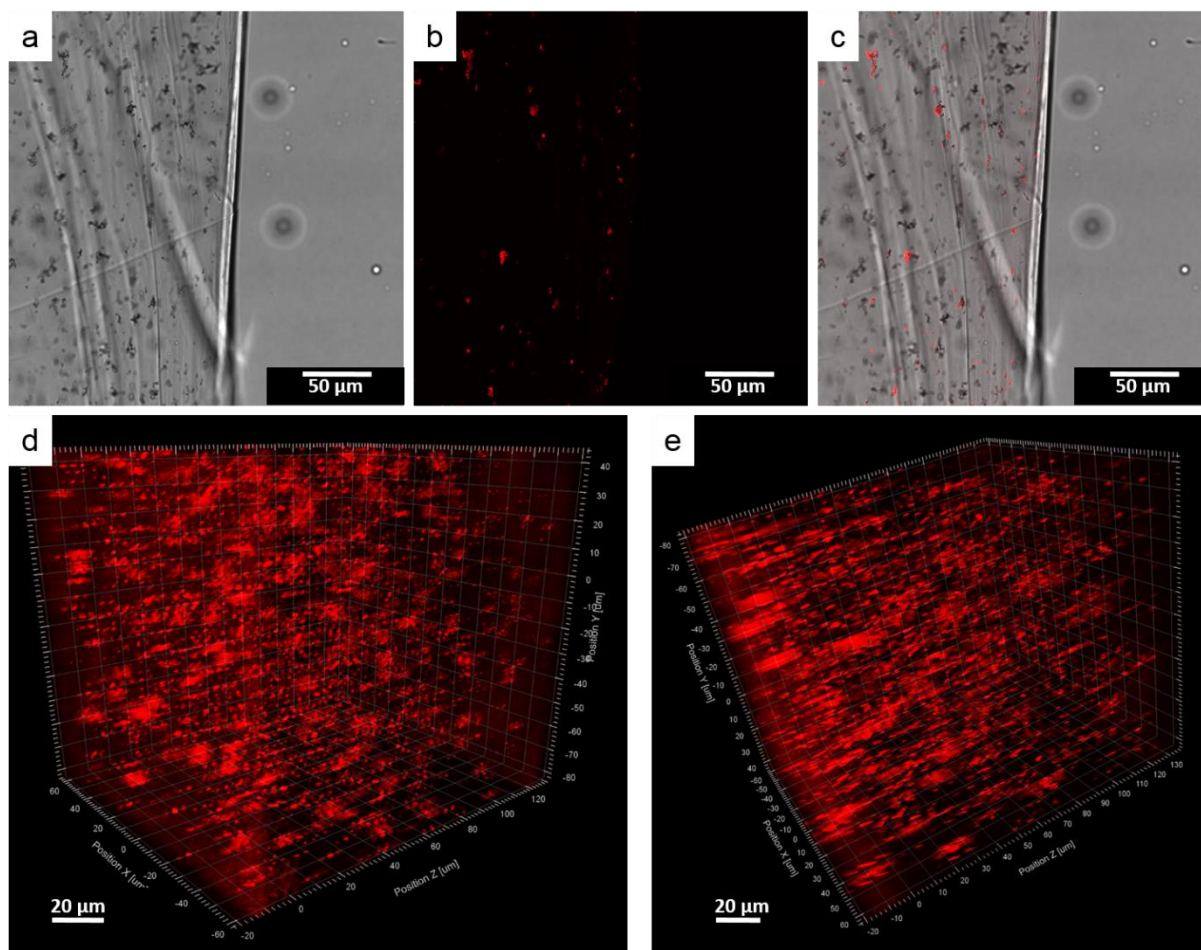
Anhang 48: Transmissionselektronenmikroskopbilder von Eisen-Nanopartikeln (0,0116 wt%) in Alginatlösungen nach dem Laserabtrag.



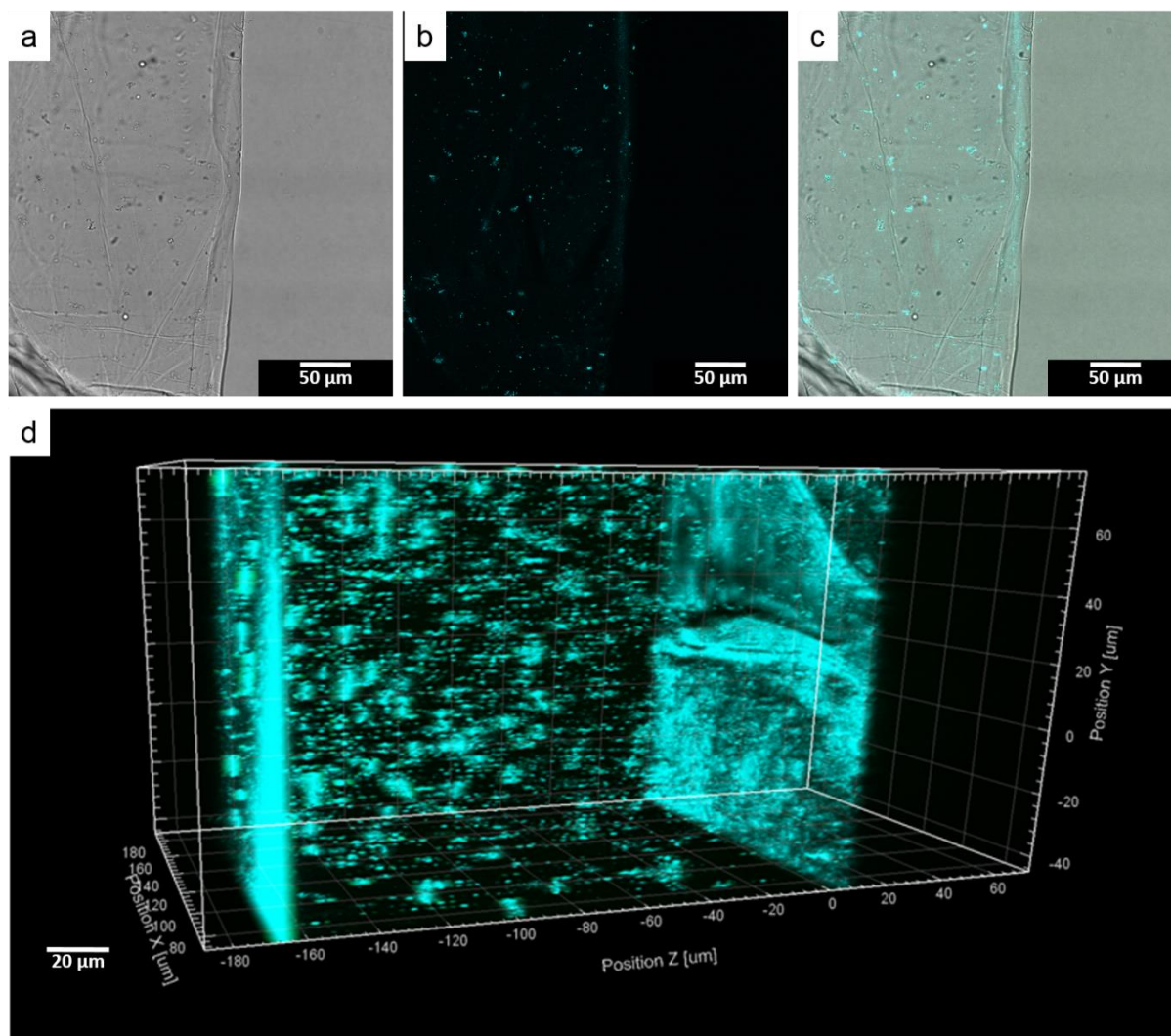
Anhang 49: Transmissionselektronenmikroskopbilder von Gold-Nanopartikeln (0,0053 wt%) in Algatatlösungen nach dem Laserabtrag.



Anhang 50: Konfokalmikroskopbilder von unbeladenen Alginatröhren. Die Detailaufnahmen a und d zeigen die Kontrastaufnahme der Matrix, b und e zeigen die Detektion von Nanopartikeln und c und f ist eine Überlagerung von a und b bzw. d und e.

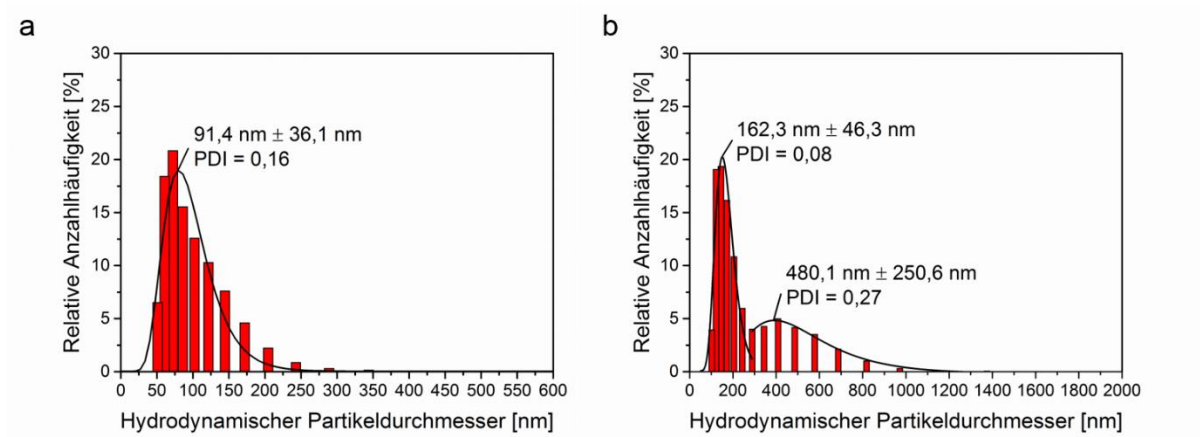


Anhang 51: Konfokalmikroskopbilder von Alginatröhren beladen mit Gold-Nanopartikeln (0,0032 wt%).
 Abbildungen a, b und c zeigen Detailaufnahmen zur Veranschaulichung der Nanopartikelverteilung in einer Ebene der Röhre. Die Detailaufnahmen a zeigt die Kontrastaufnahme der Matrix, b zeigt die Detektion von Nanopartikeln und c ist eine Überlagerung von a und b. Abbildungen d und e zeigen die Nanopartikelverteilung in einem Totalscan (Schrittweite 5 μm) der Röhre.

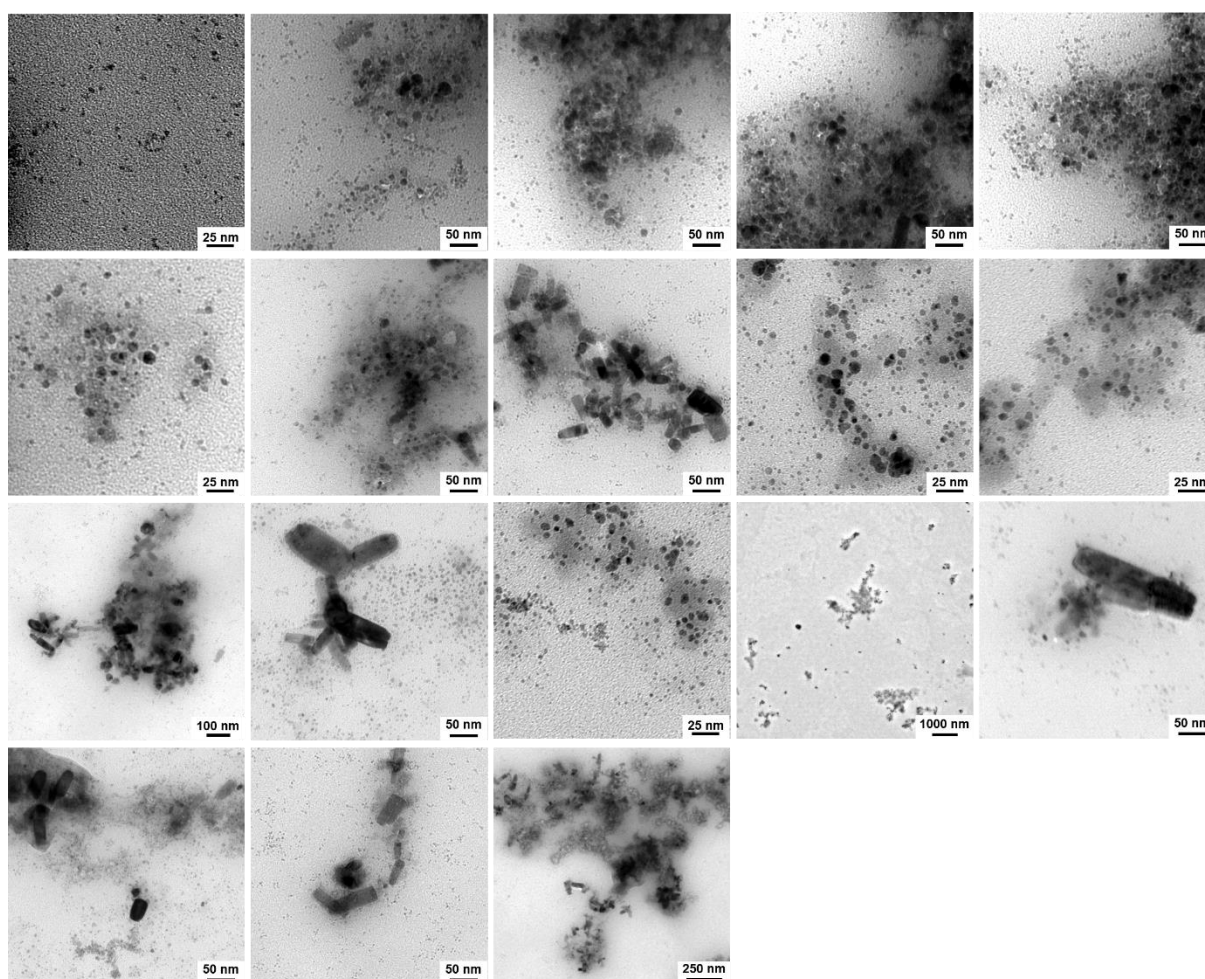


Anhang 52: Konfokalmikroskopbilder von Alginatröhren beladen mit Gold-Nanopartikeln (0,0034 wt%). Abbildungen a, b und c zeigen Detailaufnahmen zur Veranschaulichung der Nanopartikelverteilung in einer Ebene der Röhre. Die Detailaufnahmen a zeigt die Kontrastaufnahme der Matrix, b zeigt die Detektion von Nanopartikeln und c ist eine Überlagerung von a und b. Abbildungen d zeigt die Nanopartikelverteilung in einem Totalscan (Schrittweite 5 µm) der Röhre.

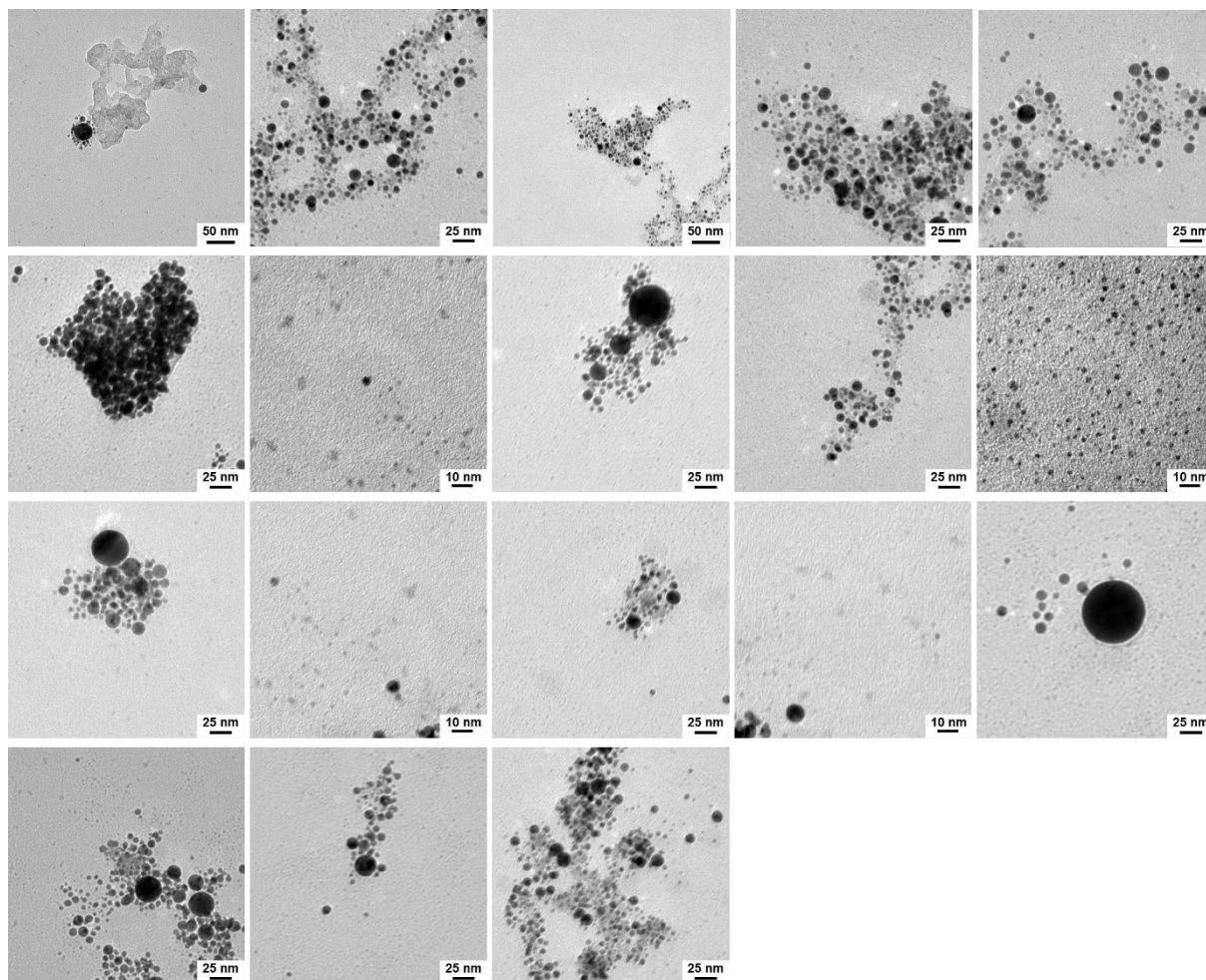
9.6.2 Stammzellendifferenzierung zur Gewebegeneration



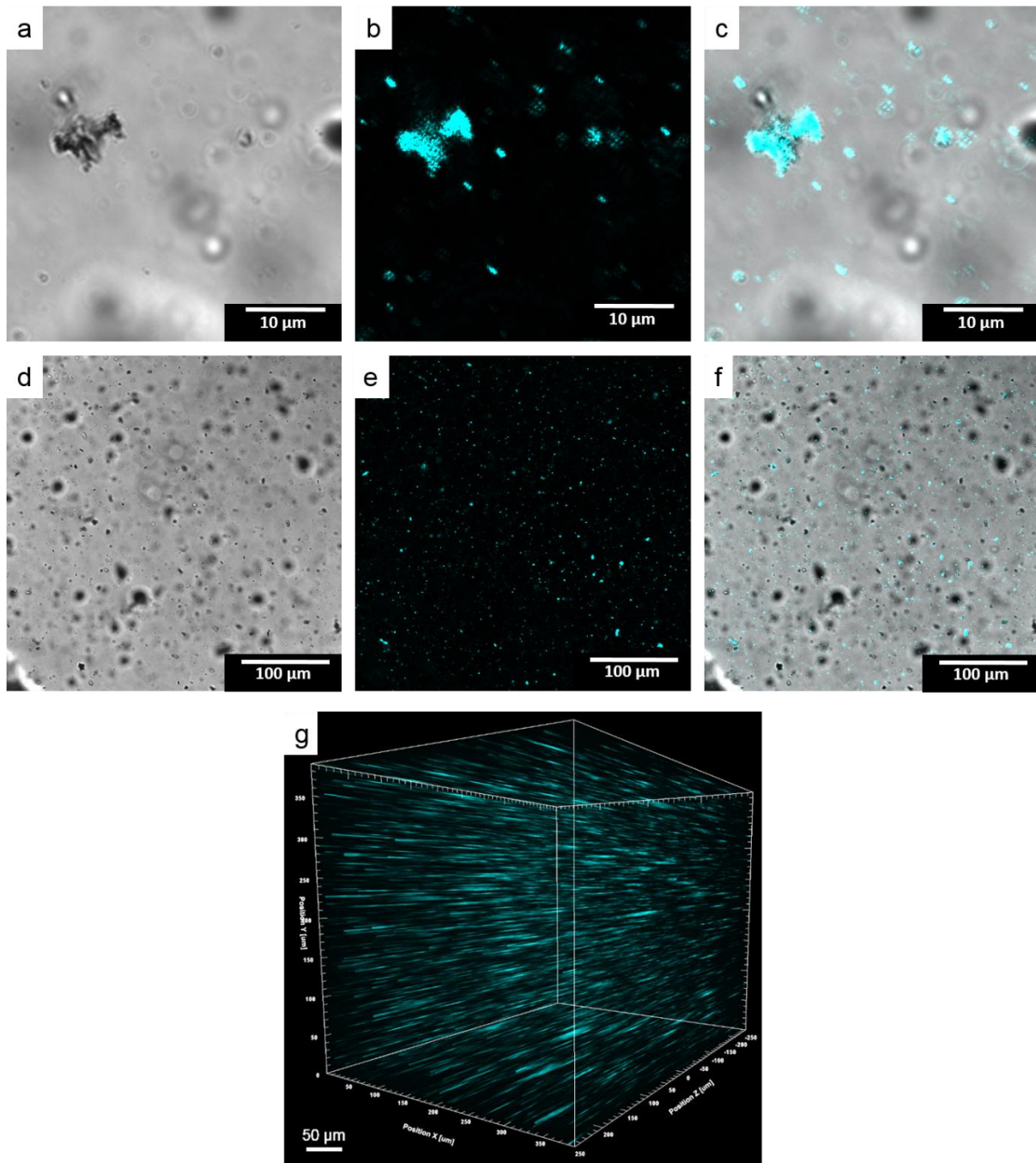
Anhang 53: Hydrodynamischer Durchmesser von Gold- (a) und Eisen-Nanopartikel (b) beladenen PEG-DA-Lösungen nach dem Laserabtrag, bestimmt über dynamische Lichtstreuung.



Anhang 54: Transmissionselektronenmikroskopbilder von Eisen-Nanopartikeln (0,06 wt%) in PEG-DA-Lösungen nach dem Laserabtrag.



Anhang 55: Transmissionselektronenmikroskopbilder von Gold-Nanopartikeln (0,51 wt%) in PEG-DA-Lösungen nach dem Laserabtrag.



Anhang 56: Konfokalmikroskopbilder von PEG-DA Gelplättchen beladen mit Eisen-Nanopartikeln (0,0034 wt%). Abbildungen a bis f zeigen Detailaufnahmen zur Veranschaulichung der Nanopartikelverteilung in einer Ebene des Plättchens. Die Detailaufnahmen a und d zeigen die Kontrastaufnahme der Matrix, b und e zeigen die Detektion von Nanopartikeln und c und f ist eine Überlagerung von a und b bzw. d und e. Die Aufnahme in g zeigt die Nanopartikelverteilung in einem Totalscan (Schrittweite 5 μm) des Plättchens.

10. Lebenslauf

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Gründen des Datenschutzes nicht
enthalten.

11. Publikationsliste

Beiträge in referierten Fachzeitschriften

P.D. Peeva, **N. Million**, M. Ulbricht; „Factors affecting the sieving behavior of anti-fouling thin-layer cross-linked hydrogel polyethersulfone composite ultrafiltration membranes“; *Journal of Membrane Science*; 390-391:99-112; **2012**.

V. Coger, **N. Million**, P. Wilke, P.M. Vogt, K. Reimers, S. Barcikowski; “Laser-generated bioactive hydrogels as ion-release systems for burn wound therapy”; *Optically Induced Nanostructures (Part II: Biomedical applications)*; 199-216; **2015**. ISBN 978-3-11-033718.

P. Wilke, V. Coger, M. Nachev, S. Schachschal, **N. Million**, S. Barcikowski, B. Sures, K. Reimers, P.M. Vogt, A. Pich; “Biocompatible microgel-modified electrospun fibers for zinc ion release”; *Polymer*; 61; 163-173; **2015**.

A. Blaeser, **N. Million**, D.F. Duarte Campos, L. Gamrad, M. Köpf, C. Rehbock, M. Nachev, B. Sures, S. Barcikowski, H. Fischer; “Laser-based *in situ* embedding of metal nanoparticles into bioextruded alginate hydrogel tubes enhances human endothelial cell adhesion”; *Nano Research*; 9 (11), 3407-3427; **2016**.

Konferenzbeiträge – Vorträge (*Vortragender)

N. Million, P. Nachev, V. Coger, A. Pich, K. Reimers, P.M. Vogt, S. Barcikowski*; „Embedding of ZnO Nanoparticles in Hybrid Microgels by Laser Ablation in Aqueous Monomer Solution“; In: SPIE-Photonics West; The Moscone Center; San Francisco; Californien; USA; **2013**.

N. Million*; “In-situ conjugation of laser generated nanoparticles with microgel forming precursor chemicals“; In: Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomaterialien (DGBM); Erlangen; Deutschland; **2013**.

N. Million*, P. Nachev, V. Coger, A. Pich, K. Reimers, P.M. Vogt, S. Barcikowski; „In-situ conjugation of nanoparticles using ultrashort pulsed laser ablation in monomer solutions for electrospinning on burn wounds“; In: 6. Workshop SPP1327 der Deutschen Forschungsgemeinschaft; Bochum; Deutschland; **2013**.

N. Million*, P. Nachev, V. Coger, A. Pich, K. Reimers, P.M. Vogt, S. Barcikowski; „Pulsed laser ablation in aqueous polymer precursor solutions for embedding bioactive nanoparticles in situ into microgel fibers for the care of burn wounds“; In: 3rd Conference on Advanced Nanoparticle Generation and Excitation by Lasers in Liquids (ANGEL); Matsuyama; Japan; **2014**.

N. Million*; P. Nachev-Wilke, V. Coger, A. Pich, K. Reimers, P.M. Vogt, S. Barcikowski; „Laser generated bioactive nanoparticles in aqueous polymer-capsules for burn wound therapy“; In: NanoBioEurope; Münster; Deutschland; **2014**.

N. Million, P. Nachev-Wilke, V. Coger, A. Pich, K. Reimers, P.M. Vogt, S. Barcikowski*; „Aqueous polymer-capsules around laser generated nanoparticles for burn wound treatment”; In: 15th International Symposium on Laser Precision Microfabrication (LPM); Vilnius, Litauen, **2014**.

N. Million*, P. Nachev, V. Coger, A. Pich, K. Reimers, P.M. Vogt, S. Barcikowski; „Final report: In-situ conjugation of nanoparticles using ultrashort pulsed laser ablation in monomer solutions for electrospinning on burn wounds”; In: 7. Workshop SPP1327 der Deutschen Forschungsgemeinschaft; Universität des Saarlandes; Saarbrücken; Deutschland, **2014**.

Konferenzbeiträge – Poster (*Vorstellender)

N. Million*, P. Nachev, A. Pich, V.Coger, K. Reimers, P.M. Vogt, S. Barcikowski; „In-situ conjugation of nanoparticles using ultra-short laser ablation in aqueous monomer solutions for electrospinning and application for burn wounds”; In: Fachtagung Nano-Additive: Aktuelle und zukünftige Anwendungen; Bundesanstalt für Materialforschung und –prüfung (BAM); Berlin; Deutschland; **2012**.

N. Million*, L. Gamrad, P. Nachev, A. Pich, S. Barcikowski; „Conjugation of nanoparticles by laser ablation in aqueous monomer solution for biomedical application”; In: 9th Zsigmondy Colloquium; Evonik Industries; Essen; Deutschland; **2013**.

N. Million*, S. Barcikowski; „Fabrication of nanoparticle-loaded hybrid microgels as bioactive ion release system for dermal application”; In: DGM European symposium on Biomaterials and Related Areas (BioMAT); Weimar; Deutschland; **2013**.

N. Million*, P. Nachev, V.Coger, A. Pich, K. Reimers, P.M. Vogt, S. Barcikowski; „Ultrashort pulsed laser ablation for the in-situ embedding of bioactive nanoparticles into hybrid microgels for future medical application”; In: DGM Euro Bio-inspired Materials; Potsdam; Deutschland; **2014**.

N. Million*, P. Nachev, V.Coger, A. Pich, K. Reimers, P.M. Vogt, S. Barcikowski; „In-situ fabrication of nanoparticle-loaded microgels by ultrashort pulsed laser ablation in monomer solutions and their future application in burn wound healing”; In: SPIE-Photonics Europe; Square Brussels Meeting Center; Brüssel; Belgien; **2014**.

P. Nachev-Wilke*, C. Molano, **N. Million**, S. Barcikowski, A. Pich; „Nanogels for Zinc Oxide Nanoparticles Encapsulation and Their Utilization for Wound Therapy”; In: 48th DGBMT Annual Conference; Hannover; Deutschland; **2014**.

N. Million, P. Nachev-Wilke, P. Pich, S. Barcikowski, (C. Rehbock*); „One step fabrication of surfactant-free nanoparticle-loaded hydrogels in aqueous media”; In: 15th Conference of the International Association of Colloid and Interface Scientists (IACIS); Mainz; Deutschland; **2015**.